

TINJAUAN MIKROBIOLOGI (TOTAL BAKTERI, TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT DAN BAKTERI KOLIFORM) PADA PENGGUNAAN ISOLAT PROTEIN KEDELAI DALAM PEMBUATAN SOSIS FERMENTASI IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) SELAMA 28 HARI PEMERAMAN

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh:
AISAH
0510832001



**FAKULTAS PERIKANAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008**



TINJAUAN MIKROBIOLOGI (TOTAL BAKTERI, TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT DAN BAKTERI KOLIFORM) PADA PENGGUNAAN ISOLAT PROTEIN KEDELAI DALAM PEMBUATAN SOSIS FERMENTASI IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) SELAMA 28 HARI PEMERAMAN

*Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Perikanan Di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya*

**OLEH:
AISAH
0510832001**

Menyetujui,

DOSEN PENGUJI I

Rahmi Nurdiani, S. Pi, M. App. Sc
Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

Ir. Kartini Zaelanie, MS
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING I

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir.Hartati Kartikaningsih, MS
Tanggal :

**Mengetahui,
KETUA JURUSAN**

Ir. Maheno Sri Widodo, MS
Tanggal :

RINGKASAN

AISAH. Skripsi tentang tinjauan mikrobiologi (total bakteri, total bakteri asam laktat dan bakteri koliform) pada penggunaan isolat protein kedelai dalam pembuatan sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) selama 28 hari pemeraman (dibawah bimbingan **Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS** dan **Ir.HARTATI KARTIKANINGSIH, MS**).

Sosis adalah makanan yang terbuat dari daging ataupun ikan yang telah dicincang, dihaluskan dan diberi bumbu-bumbu kemudian dimasukkan ke dalam pembungkus yang berbentuk bulat panjang yang berupa usus hewan atau pembungkus buatan dengan atau tanpa dimasak, dengan atau tanpa diasap.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk meninjau keadaan mikrobiologi sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang ditambahkan isolat protein kedelai selama 28 hari pemeraman. Penelitian ini dilaksanakan tanggal 28 Februari sampai 4 April 2007. Bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang khusus membahas teknik pengumpulan dan penyajian data mengenai suatu keadaan agar bersifat informatif atau dapat menjelaskan karakter suatu keadaan. Aspek yang diteliti adalah kondisi mikrobiologi (total bakteri, total bakteri asam laktat dan bakteri koliform) sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang ditambahkan isolat protein kedelai 0%, 1.25%, 2.5%, 3.75% dan 5% selama 28 hari pemeraman. Sedangkan data pendukungnya pH dan a_w .

Dari penelitian ini dapat dilaporkan kondisi mikrobiologi sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan penggunaan isolat protein kedelai yaitu secara umum total bakteri sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) meningkat pada hari ke 0 sampai 14 pemeraman dan menurun pada hari ke 28 pemeraman. Total bakteri asam laktat meningkat pada semua konsentrasi isolat protein kedelai sedangkan bakteri koliform (patogen) mati pada hari ke 28 pemeraman dikarenakan adanya zat antimikrobal dari bakteri asam laktat yang bersifat bakterisidal. Kondisi pH dan a_w sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) menurun karena adanya aktivitas bakteri asam laktat yang meningkat dan stabil pada hari ke 28 dan banyak memanfaatkan protein murni dari isolat protein kedelai baik pada penggunaan 0%, 1.25%, 2.5%, 3.75% dan 5%.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT dengan kasih dan sayang-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan skripsi yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Shalawat dan salam penulis curahkan untuk Rosululloh SAW beserta sahabat dan para thabi'in dan semoga kita semua termasuk umat Rosululloh yang tetap istiqomah dalam dakwah islam.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan motivasi hingga laporan skripsi ini selesai.
2. Rahmi Nurdiani, S. Pi, M. App. Sc dan Ir. Kartini Zaelanie, MS selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam laporan skripsi ini.
3. Bapak, ibu serta kakak semua atas doa, motivasi, dan bantuan moril dan material.
4. Teman-teman seperjuangan dakwah islam di FOKSI dan Alief Foundation Ikhwah PKS serta ustad dan ustadah dengan semangat baru untuk dakwah islam
5. Teman-teman alih jenjang IPB, dan "*Happy Team Sausages*" tetap kompak selalu.
6. Para Laboran, Staf, Karyawan serta tukang kebun di Fakultas Perikanan

Malang, Desember 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR LAMPIRAN	v
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2.2 Sosis Fermentasi	5
2.3 Bakteri Asam Laktat	6
2.4 Kultur Campuran	9
2.5 Fermentasi Asam Laktat.....	9
2.6 Isolat Protein Kedelai.....	10
2.7 Pengasapan Daging	12
2.8 Emulsi.....	13
2.9 Kerusakan Mikrobiologi	13
2.10 Pertumbuhan Bakteri	15
2.11 Nilai pH	17
2.12 Nilai a_w	18
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Bahan	20
3.1.2 Alat	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.2.1 Metode	21
3.3 Pelaksanaan Penelitian	22
3.1.1 Proses Pembuatan Sosis Fermentasi.....	22
3.4 Parameter Uji Mikrobiologi	23

3.4.1 Total Plate Count/ Total Bakteri	23
3.4.2 Total Bakteri Asam Laktat dan Patogen.....	24
3.4.3 A_w	26
3.4.4 pH	27
4. PEMBAHASAN	29
4.1 Isolat Protein Kedelai 0%	30
4.2 Isolat Protein Kedelai 1.25%	32
4.3 Isolat Protein Kedelai 2.5%	35
4.4 Isolat Protein Kedelai 3.75%	38
4.5 Isolat Protein Kedelai 5%	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	50



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Skema Pembuatan Sosis Fermentasi Ikan Lele Dumbo.....	47
2. Pertumbuhan Bakteri.....	48
3. Lay Out Pengambilan Sampel.....	49
4. Uji Bakteri Asam Laktat	50
5. Uji Total Bakteri Asam Laktat.....	51
6. Uji Bakteri Koliform (Patogen)	52
7. Uji a_w	53
8. Uji pH.....	54



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sosis adalah makanan yang terbuat dari daging ataupun ikan yang telah dicincang, dihaluskan dan diberi bumbu kemudian dimasukkan ke dalam pembungkus yang berbentuk bulat panjang yang berupa usus hewan atau pembungkus buatan dengan atau tanpa dimasak, dengan atau tanpa diasap (Hadiwiyoto, 1983). Jenis sosis yang sudah dikenal ada 5 kelas yaitu sosis segar, sosis segar asap, sosis masak sosis kering dan sosis semi kering, sosis spesilitas daging masak. Berdasarkan metode yang digunakan, sosis dapat dikelompokkan dalam dua kategori yaitu sosis segar dan sosis fermentasi. Sosis fermentasi yaitu produk yang dibuat dari daging dicampur dengan garam, gula dan bumbu, dimasukkan ke dalam casing, proses pematangan dengan cara fermentasi oleh bakteri asam laktat yang terdapat dalam daging secara alami maupun bakteri starter yang ditambahkan (Soeparno, 1992). Bakteri asam laktat yang digunakan antara lain *Pediococcus sp.* dan *Lactobacillus sp* (Anonymous, 2006).

Berdasarkan tingkat kehalusan penggilingan daging, sosis dibedakan atas sosis daging dan emulsi. Untuk meningkatkan kualitas penampakan sosis perlu ditambahkan pengemulsi yang berfungsi sebagai pengikat (binder). Selama ini pengemulsi yang digunakan masih menggunakan kuning telur, pasta kanji, kasein atau beberapa tepung seperti tepung terigu, namun kendala yang sering dihadapi adalah kualitas emulsinya yang kurang stabil sehingga perlu pengemulsi yang

berperan ganda dalam pembentukan emulsi dan menstabilkan emulsi tersebut. Pengemulsi yang digunakan berasal dari kacang-kacangan seperti biji kedelai dengan produknya berupa isolat protein kedelai dengan kandungan proteinnya sebesar 90-95% (Anonymous. 2007^b). Lebih lanjut menurut (Wang *et al.*, 2001), bahwa isolat protein kedelai mempunyai kemampuan emulsi yang terbesar diikuti oleh tepung kedelai dan konsentrat kedelai. Menurut Luiza *et al.*, (2006) bahwa isolat protein kedelai mempunyai kemampuan yang bagus dalam pembentukan gel dan *Water Holding Capacity* (WHC).

Secara umum kerusakan bahan pangan terutama sosis fermentasi "salami" dan sosis masak diakibatkan oleh bakteri gram negatif berbentuk batang spora bakteri dan beberapa jenis khamir. Contoh bakteri penghasil toksin yang tumbuh pada sosis yang mengandung protein adalah *Staphylococcus aureus* pada pH 0,9 (Mossel dalam Supardi dan Sukamto, 1999). Sosis fermentasi dengan penambahan isolat protein kedelai berpotensi mengalami kerusakan secara mikrobiologi karena dalam isolate protein kedelai mengandung 90% protein murni yang mengandung zat lesitin dimana pada zat tersebut terdiri dari 85% globulin, 5,5% albumin, 4,5% proteosa, 2% selusosa, 6% hemiselulosa serta 14% gula, disamping itu adanya vitamin dan mineral (Widatmoko dan Hartomo, 1993). Unsur-unsur merupakan nutrisi yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Menurut Supardi dan Sukamto (1999) bahwa dalam pengolahan bahan makanan seminimal mungkin terdapatnya kandungan mikroba di dalamnya, serta diusahakan untuk tidak didapatkan mikroba-mikroba yang patogen ataupun penghasil toksin lainnya, karena kehadiran mikroba merupakan syarat mutlak dalam penentuan kualitas dan keamanan makanan.

Dengan pertimbangan tersebut diperlukan penelitian untuk meninjau kondisi mikrobiologi (total bakteri, bakteri asam laktat maupun bakteri koliform) sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan penggunaan isolat protein kedelai sehingga keberadaan makanan tersebut dipastikan aman untuk dikonsumsi.

1.2 Perumusan Masalah

Sosis fermentasi merupakan salah satu jenis sosis yang diolah dengan bantuan bakteri pembentuk asam laktat. Fermentasi asam laktat digunakan untuk memperbaiki kualitas produk dan memperpanjang masa simpannya. Dengan demikian produk fermentasi akan lebih awet (Pederson, 1978 dalam Amri 1998). Bakteri yang digunakan antara lain *Pediococcus sp.* dan *Lactobacillus sp.* (Anonymouas, 2006).

Dalam proses pembuatan sosis fermentasi perlu ditambahkan pengemulsi dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas emulsi. Pengemulsi yang digunakan berasal dari kacang-kacangan seperti biji kedelai dengan produknya berupa isolat protein kedelai yang mengandung 90-95% protein (Anonymous. 2007^b). Berbagai kerusakan bahan pangan terutama pada sosis yang mengandung protein baik pada sosis fermentasi dan sosis masak diakibatkan oleh bakteri patogen maupun non patogen. Sosis fermentasi dengan penambahan isolat protein kedelai sangat berpotensi dalam kerusakan bahan pangan. Oleh karena itu diperlukan penelitian tentang kondisi mikrobiologi sosis fermentasi yang ditambahkan isolat protein kedelai selama 28 hari pemeraman.

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk meninjau kondisi mikrobiologi (total bakteri, total bakteri asam laktat dan bakteri koliform) sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) selama 28 hari pemeraman sehingga produk sosis fermentasi tersebut dapat dikatakan layak atau tidaknya untuk dikonsumsi.

1.4 Kegunaan

Dari hasil penelitian ini terdapat beberapa kegunaan sebagai berikut:

1. Bagi mahasiswa, dapat dijadikan referensi pengetahuan mengenai sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) selama 28 hari pemeraman.
2. Bagi masyarakat umum, dapat dijadikan tambahan pengetahuan mengenai kondisi mikrobiologi sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*)
3. Bagi industri pangan, dapat dijadikan dasar pengembangan produk sejenis maupun produk fermentasi lainnya
4. Bagi pemerintah dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam menyusun kebijakan pembangunan sektor perikanan dalam upaya diversifikasi produk perikanan yang fungsional.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan tanggal 28 Februari sampai 4 April 2007. Bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Lele dumbo (*Clarias gariepinus*)

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan jenis hibrida yang memiliki tingkat pertumbuhan badan cukup spektakuler baik panjang maupun beratnya yakni mencapai 4 kali lipat dibandingkan dengan lele lokal. Sebagai perbandingan, dalam waktu 5-6 bulan ikan lele dumbo mampu mencapai berat 180-200 gram per ekor, sementara untuk lele lokal dalam waktu yang sama hanya mampu mencapai 40-50 gram per ekor saja (Santoso, 1994). Komposisi gizi yang dimiliki ikan lele dumbo terdiri atas protein (17-37%), lemak (4,8%), mineral (1,2%), vitamin (1,2%) dan air (75,1%) (Soetomo, 2000).

2.2 Sosis Fermentasi

Sosis merupakan produk olahan yang terbuat dari daging dan telah mengalami pengecilan ukuran misalnya dengan penggilingan serta penambahan pati dan bumbu kemudian dimasukkan kedalam selongsong pembungkus berbentuk silinder panjang (Astawan, 1987). Jenis sosis yang beredar di Indonesia, umumnya adalah sosis yang belum dimasak (*un cooked sausage*) dan sosis yang diasap (*smoked sausage*). Sosis kering atau sosis musim panas disimpan pada suhu 8°C selama 40 hari atau lebih yang selama waktu itu terjadi fermentasi asam laktat disertai dehidrasi daging yang cukup tentu saja hal ini meningkatkan kadar garam yang bersama dengan asam laktat mencegah pertumbuhan organisme yang merusak (Soenartono, 1990)

Adapun proses pembuatan sosis fermentasi menurut Aryanta *et al.*, (1991) dimulai dengan tahap persiapan daging sebagai bahan baku. Daging digiling sampai

halus dengan menggunakan blender. Tujuan dari penggilingan ini dimaksudkan untuk memotong serat-serat daging. Selanjutnya, daging dicampur dengan garam dapur (NaCl), Natrium Nitrat (NaNO_3) dan Natrium Nitrit (NaNO_2). Proses pencampuran ini bertujuan untuk mengekstrak protein dari dalam daging, setelah halus daging tersebut disimpan pada suhu rendah 0 sampai 4°C selama 24 jam. Tahap selanjutnya ialah pembuatan adonan yang terdiri dari campuran daging halus dengan bumbu-bumbu yang terdiri dari gula, lada hitam, lada putih, ketumbar, jahe, kayu manis, bawang putih dan cengkeh. Pada tahap ini bakteri asam laktat sengaja ditambahkan pada adonan yang berperan sebagai starter *Lactobacillus* dan *Pediococcus acidilactici* proses fermentasi pada sosis yang akan mengalami proses pemeraman, kemudian adonan dimasukkan ke dalam selongsong. Tahap berikutnya ialah proses pengasapan sosis dengan menggunakan suhu 45 sampai 50°C selama sekitar 4 jam. Setelah proses pengasapan selesai, maka tahap akhir proses pembuatan sosis fermentasi ini ialah tahap pemeraman pada suhu antara $15\text{-}20^\circ\text{C}$ selama sekitar 1 bulan.

2.3 Bakteri Asam Laktat

Pengelompokan bakteri berdasarkan sifat pertumbuhannya pada makanan terdiri atas beberapa jenis bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, bakteri asam butirat dan bakteri asam propionat, bakteri proteolitik, bakteri lipolitik, bakteri sakarolitik, bakteri pektolitik, bakteri termofilik, bakteri psikotropik, halofilik, osmofilik, bakteri berpigmen, bakteri pembentuk lendir dan bakteri pembentuk gas (Fardiaz, 1992).

Bakteri asam laktat biasanya digunakan untuk memperbaiki kualitas produk dan memperpanjang masa simpannya. Dengan terbentuknya asam laktat maka pH akan turun dan dapat mencegah bakteri pembusuk (Buckle *et al.*, 1987). Untuk hidup

semua organisme membutuhkan sumber energi yang diperoleh dari metabolisme bahan pangan dimana organisme berada di dalamnya. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan oleh mikrobia adalah glukosa. Dengan adanya mikrobia tertentu yaitu bakteri asam laktat yang dapat memproduksi asam laktat, asam asetat dan asam formiat yang tinggi dalam proses fermentasi tersebut, maka produk fermentasi akan lebih awet (Pederson 1978 dalam Amri 1998).

Efek antimikrobal dari bakteri asam laktat berkaitan dengan asam organik (asam asetat, asam laktat, asam formiat, hidrogen peroksida dan bakteriosin yang dihasilkan). Bakteriosin aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria* dan *Pseudomonas* (Irawadi dalam Amri, 1998). Lebih lanjut menurut Buckle *et al* (1987), bahwa *diacetyl* yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat menghambat dan mengurangi atau membunuh beberapa sel patogen. Efek penghambatan *diacetyl* hanya diproduksi pada konsentrasi asam tinggi. Bakteri asam laktat menghasilkan zat antimikrobal dan bakteriosin akan memberikan daya awet makanan fermentasi.

Bakteri asam laktat ada 2 kelompok yaitu:

1. Bakteri asam laktat homofermentatif yaitu kelompok bakteri asam laktat yang pada dasarnya hanya memproduksi asam laktat dari karbohidrat yang dapat difermentasi (Soenartono, 1990). Asam laktat yang terbentuk kira-kira 90%. Contoh bakteri asam laktat homofermentatif *Streptococcus faecalis*, *Liquifaciens* (Sunawiria, 1996). Jenis-jenis bakteri asam laktat yang homofermentatif yaitu *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus cerevisae* (Buckle *et al.*, 1987).

2. Bakteri asam laktat heterofermentatif adalah kelompok bakteri yang memproduksi asam asetat, karbondioksida dan asam laktat dari karbohidrat yang dapat difermentasi (Soenartono, 1990). Bakteri ini menghasilkan asam laktat kurang dari 90% misal bakteri asam laktat *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* dan *Lactobacillus pentoaceticum* (Sunawiria, 1996).

Pediococcus acidilactici merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam proses fermentasi bahan pangan. Bakteri ini merupakan jenis bakteri gram positif dan berbentuk bulat. *Pediococcus acidilactici* tumbuh dalam media MRS (*Man, Rogosa dan Sharpe*) broth. Zat antimikrobia *pediocin* yang dihasilkan *Pediococcus acidilactici* merupakan suatu zat antimikroba yang dipengaruhi suhu dan lebih aktif pada kisaran pH 5 (Anna dan Torres, 1998). Menurut Vural (1998), bahwa starter *Pediococcus acidilactici* pada sosis fermentasi *Turkish* mempunyai pengaruh yang sangat nyata dalam menurunkan pH, meningkatkan kandungan asam laktat dan dapat meningkatkan penerimaan terhadap karakter warna, penampakan, flavour dan aseptabilitas dibandingkan *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus pentosaceus*.

Lactobacillus casei merupakan bakteri gram positif, anaerob fakultatif, non motil, tidak membentuk spora, berbentuk batang (sel berukuran 0,7-1,1 x 2,0-4 mikro meter) merupakan bagian dari genus bakteri asam laktat. *Lactobacillus* tahan asam, menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir fermentasi. *Lactobacillus* merupakan organisme fakultatif homofermentatif. Kondisi pertumbuhan optimum pada suhu 37°C dan pH 6,8 dan apabila digunakan dalam

produk susu fermentasi, waktu inkubasi yang diperlukan 24 jam. *Lactobacillus casei* memproduksi zat antagonistik yang menghambat tumbuhnya mikroba lain. Zat-zat tersebut diantaranya asam laktat, H_2O_2 , diasetil, nisin dan bacteriosin (Ferrero *et al.*, 2001).

2.4 Kultur Campuran

Kultur campuran dengan jumlah yang proporsial sangat penting untuk menghasilkan beberapa produk fermentasi komersial. Dalam kultur campuran dapat terjadi interaksi baik yang bersifat positif maupun negatif yaitu kompetisi, netralisme, mutualisme dan parasitisme. Jika dua spesies hidup bersama dan mengadakan kegiatan yang tidak saling mengganggu, akan tetapi kegiatan masing-masing itu justru berupa suatu urutan yang saling menguntungkan, maka hubungan hidup antara kedua spesies itu disebut sinergisme (Dwidjoseputro, 2005).

2.5 Fermentasi asam laktat

Fermentasi laktat dalam industri pangan adalah fermentasi yang dilakukan oleh sekelompok bakteri asam laktat termasuk *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, dan *Streptococcus*. *Lactobacillus* merupakan jenis yang banyak digunakan dalam produk-produk pangan fermentasi. Bakteri asam laktat berfungsi untuk mengawetkan makanan karena membentuk asam dan menurunkan pH makanan, mempertahankan kesehatan tubuh dan pembentukan cita rasa produk. (Fardiaz, 1992). Manfaat dari makanan fermentasi asam ialah makanan menjadi resisten terhadap mikroba pembusuk dan berkembangnya toksin pada makanan, kemungkinan makanan sebagai media mikroba patogen berkurang, makanan menjadi

awet, dan makanan mengalami flavor yang digemari dan meningkat nilai gizinya (Ansori rahman, 1992).

Proses fermentasi sering didefinisikan sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerobik yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu. Karbohidrat merupakan substansi utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula sederhana sebelum difermentasi, misalnya hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Glukosa kemudian akan dipecah menjadi senyawa-senyawa lain tergantung dari jenis fermentasinya (Fardiaz, 1992). Penggunaan asam dalam pengolahan bahan makanan mempunyai peranan yang bersifat antimikobia. Sifat tersebut karena penambahan asam akan mempengaruhi pH disamping juga adanya sifat keracunan mikroba yang khas dari hasil uraiannya. Toksisitas asam yang ditimbulkannya sangat bervariasi bergantung kepada derajat disosiasinya dan kondisi keasamannya (Soepardi dan Sukanto, 1999)

2.6 Isolat Protein Kedelai

Produk utama kedelai yang terdapat di pasaran internasional adalah tepung kedelai yang mengandung 50-69% protein, protein pekatan 70% protein dan isolat protein 90-95% protein. Isolat protein kedelai merupakan bentuk protein murni yang mengandung minimal 90% protein dari berat kering. Isolat protein kedelai biasanya digunakan sebagai bahan campuran dalam makanan oleh daging dan susu. Isolat

protein kedelai baik sekali digunakan dalam industri makanan sebagai bahan pengikat dan pengemulsi dalam produk daging (Winarno, 1993). Manfaat isolat protein kedelai antara lain meningkatkan nilai ekonomi, sumber kualitas protein yang tinggi, menyediakan fungsi bahan dalam pembentukan gel dan tekstur yang baik dan bagus, sebagai pengemulsi lemak, sebagai pengikat air, dan mampu meningkatkan lemak dan menahan kandungan air pada produk akhir. Penggunaan isolat protein kedelai sebesar 2% pada sosis yang dimasak mempunyai pengaruh yang bagus (USDA dalam Russ, 2007)

Mekanisme kerja *emulsifier* yaitu bagian molekul emulsifier yang bersifat larut dalam minyak (hidrofobik) terletak dibagian dalam dan berikatan dengan molekul lemak. Sedangkan bagian yang larut dalam air (hidrofilik) menghadap keluar dan berikatan dengan molekul air (Winarno, 1984). Didalam proses emulsifikasi antara lemak, protein, garam dan air bercampur menjadi emulsi semi cair. Protein otot daging disebut *myosin* terlarut dari serat otot karena kontak dengan garam. Protein yang terlarut dan air berkombinasi mengelilingi globula lemak dan menahan partikel lemak pada suspensi yang dikeluarkan dalam campuran bergabung dengan bumbu dan penyedap. Jika jumlahnya memadai, *emulsifier* akan membentuk lapisan kontinyu diantara fase lemak dan fase air sehingga menstabilkan emulsi. Protein berinteraksi dengan protein dikarenakan adanya ikatan rangkap hidrogen dan perubahan antara gugus sulhidril dan disulfida. Interaksi molekuler tersebut membentuk suatu jaringan tiga dimensi yang mengakibatkan tekstur protein kompak. Dengan adanya struktur tiga dimensi tersebut akan merangkap sejumlah air dan lemak (Republika, 2007).

Dari beberapa hasil penelitian Wang *et al.*, (2001), bahwa Isolat protein kedelai mempunyai kemampuan emulsi yang terbesar diikuti oleh tepung kedelai dan konsentrat kedelai. Kemampuan pembuihan isolat protein kedelai lebih besar dari pada yang lainnya. pH secara umum pada semua produk protein kedelai meningkat. Ditinjau dari segi keamanan pangan, isolat protein kedelai mempunyai pengaruh sebagai sumber kontaminasi mikroba dan dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Penambahan isolat protein kedelai pada pembuatan sosis fermentasi *chorizo* yang disimpan dingin tidak meningkatkan nilai pH secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Nilai pH akan menurun dengan lamanya penyimpanan. Nilai a_w masih bisa diterima. Jumlah bakteri patogen dan total bakteri tidak meningkat secara nyata. Penambahan isolat protein kedelai sebesar 2,5% dapat mencegah *drip loss* pada sosis *chorizo* yang dikemas secara *vacuum* selama penyimpanan. Penambahan isolat protein kedelai pada sosis fermentasi *chorizo* mempunyai nilai organoleptik dan mikrobiologi yang tinggi selama 14 hari. Pendapat ini dipertegas pula oleh Luiza *et al.*, (2006), bahwa protein kedelai merupakan protein *legume* dengan kadar protein tinggi dan keseimbangan asam amino serta kemampuan yang bagus dalam pembentukan gel dan *Water Holding Capacity* (WHC). Menurut Kumar *et al.*, (2003), bahwa penggunaan isolat protein kedelai sebanyak 2 - 3,5 % dapat digunakan sebagai binder (pengikat) yang baik.

2.7 Pengasapan daging

Sosis dapat dimasak dengan metode panas basah dan panas kering. Tujuannya mengompakkan daging sosis karena koagulasi protein dan dehidrasi sebagian,

memantapkan warna sosis *cured* karena denaturasi mioglobin dan pembentukan *nitrosilhemokrom* dan dapat memperpanjang masa simpan. Selama pemasakan di dalam ruangan asap sosis akan kehilangan berat kira-kira 5%-10%. Kelembaban relatif yang biasa dipergunakan adalah 35-45% (Soeparno,1992).

2.8 Emulsi

Beberapa bahan yang berfungsi untuk *emulsifier* adalah kasein, kuning telur, pektin, gelatin, kasein, albumin. Daya kerja *emulsifier* disebabkan oleh bentuk molekul yang dapat terikat baik pada minyak maupun air. Bila *emulsifier* lebih terikat pada air atau lebih larut dalam air (polar) maka dapat lebih membantu terjadinya dispersi minyak dalam air sehingga terjadinya *emulsifier* minyak dalam air (Winarno, 2002). Dari hasil penelitian Wang *et al.*, (2001), bahwa isolat protein kedelai dapat berfungsi sebagai *emulsifier* juga.

2.9 Kerusakan Mikrobiologi

Penyebab utama kerusakan mikrobiologi adalah bakteri, jamur dan khamir. Organisme-organisme tersebut memecah komponen kompleks dalam pangan menjadi senyawa lebih sederhana dan menyebabkan perubahan terhadap flavor, tekstur, warna dan bau pangan tersebut (Sherrington, 1992). Suatu kelompok mikroba yang terdapat di dalam suatu makanan dapat tumbuh subur, tetap dominan atau mati sangatlah tergantung kepada beberapa faktor penyebab yaitu faktor intrinsik yang berupa a_w , nilai pH, potensial redoks, zat-zat gizi, hidrat arang, lemak, protein dan peptida, vitamin, bahan-bahan anti mikroba alami dan struktur biologis. Faktor kedua yaitu

faktor pengolahan seperti faktor-faktor yang mempengaruhi penyimpanan dan transpor seperti suhu, kelembaban dan susunan gas. Faktor ketiga yaitu faktor implisit dengan adanya mikrobia yang saling menguntungkan (sinergis) atau merugikan pertumbuhan jenis mikroorganisme lain (Supardi dan Sukanto, 1999).

Tiga parameter yang menandai laju pertumbuhan mikrobia adalah lamanya fase lag, laju pertumbuhan eksponensial dan produksi massa sel total. Faktor keempat yaitu makanan. Faktor ini mempengaruhi jumlah dan jenis mikroba yang terdapat pada makanan terutama pada a_w , pH dan senyawa anti mikroba. Sosis fermentasi termasuk dalam tiga kelompok besar dalam penggolongan makanan yaitu termasuk golongan makanan yang mempunyai pH 4,5- 5,3 (Supardi dan Sukanto, 1999).

Laju pertumbuhan tergantung pada nilai pH, karena pH mempengaruhi fungsi membran, enzim dan komponen sel lainnya. Pengaruh pH dapat menggumpalkan protein pada titik isolistriknya dan mempengaruhi kelarutan konstituen. Perubahan pH dapat mempengaruhi permeabilitas sel. Suhu mempengaruhi laju pertumbuhan. Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi dasar sebagai sumber karbon, nitrogen, energi dan faktor esensial pertumbuhan (mineral dan vitamin) untuk menopang pertumbuhannya. Gula dapat digunakan sebagai sumber karbon. Selain itu bahan-bahan non gula seperti asam amino, asam laktat, etil alkohol, dan substansi lainnya. Jika gula yang digunakan sebagai sumber karbon maka konsentrasinya berkisar 0,5-1,5%. Konsentrasi sumber karbon mempunyai batas maksimum dan bila melebihi batas tersebut akan menghambat laju pertumbuhan. Dengan menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon penghambatan akan dimulai pada konsentrasi 50 gram/liter. Garam-garam nutrisi akan menghambat laju pertumbuhan mikroba. Bila

yang digunakan amonium sebagai sumber nitrogen penghambatan dimulai pada konsentrasi 10 gram/liter. Penghambatan tersebut diakibatkan oleh peningkatan tekanan osmosa dengan bertambahnya konsentrasi sehingga sel akan mengalami plasmolisa. Wang *et al* (1979) dalam Machfud (1989), memberikan pedoman penggunaan garam nutrien dan amonium, fosfat dan nitrat masing-masing 5 gram/liter, 10 gram/liter dan 5 gram/liter. Preservasi mempunyai tujuan untuk mengamankan daging dan produk daging dari proses kerusakan oleh mikroorganisme dan untuk memperpanjang masa simpan. Salah satu metode yang banyak digunakan dalam preservasi adalah dengan pengasaman misalnya dengan adanya asam laktat (Soeparno, 1992). Pertumbuhan mikroba dapat ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel, sedangkan kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimiawinya (Machfud *et al.*, 1989).

2. 10 Pertumbuhan bakteri

Laju pertumbuhan bakteri akan menurun akibat persediaan nutrien berkurang dan terjadi akumulasi zat-zat metabolik yang menghambat pertumbuhan. Laju pertumbuhan akan menurun terus sampai nilainya nol (Machfud *et al.*, 1989). Koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme karena itu beberapa mikroorganisme tertentu cenderung berkelompok. Bila ditumbuhkan pada media dan lingkungan akan menghasilkan 1 koloni. Berdasarkan hal tersebut seringkali digunakan istilah *colony forming units* (cfu/ml) untuk penghitungan jumlah mikroorganisme hidup (Lay, 1994)

Menurut penelitian Porcella *et al.*, (2000), bahwa bakteri asam laktat pada pembuatan sosis fermentasi meningkat 1 log/gr pada hari ke-0 dan ke-5. Hal ini diindikasikan karena bakteri sedang dalam tahap adaptasi. Pada Hari ke-8 dan ke-11 penyimpanan, total bakteri dan bakteri asam laktat meningkat dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Pada hari ke-14 dan 20, total bakteri dan bakteri asam laktat, pertumbuhannya terjaga (nilai sama). Pertumbuhan bakteri patogen, total bakteri dan bakteri asam laktat tidak menunjukkan pengaruh yang nyata antara kontrol dan penambahan isolat protein kedelai. Pada umumnya semakin makanan bersifat basa atau bersifat asam, semakin stabil makanan tersebut (Winarno, 1994). Berbagai mikroba patogen seringkali ditularkan melalui air yang tercemar sehingga menimbulkan penyakit pada manusia maupun hewan. Keragaman mikroba yang dapat menimbulkan penyakit ini menyebabkan para ahli mencari indikator untuk menunjukkan adanya mikroba patogen sehingga dapat diketahui kualitas mikrobiologi, sebagai indikatornya banyak digunakan kelompok koliform.

Medium selektif banyak digunakan untuk mengisolasi mikroba patogen dalam air, makanan (Lay, 1994). Jumlah koliform di dalam contoh dapat dihitung dengan metode hitungan cawan menggunakan medium VRBA. Untuk menghitung jumlah bakteri gram negatif ditambahkan komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif ke dalam medium. Bakteri gram positif pada umumnya dihambat oleh zat-zat pewarna trifenilmetana seperti violet kristal, *fuchin* basa, hijau brilian dan hijau malasit. Medium selektif seperti VRBA (*Violet Red Bile Agar*) dapat digunakan untuk menyeleksi anggota dari famili *Enterobacteriaceae*. Komposisi medium VRBA adalah ekstrak khamir 3 gram, Pepton 7 gram, Garam bile 1,5 gram,

Lactosa 10 gram, Natrium klorida 5 gram, Merah netral 0,03 gram, Violet kristal 0,002 gram, Agar 15 gram, air Destilata 1000 ml, pH 7,4. Uji bakteri enteropatogenik dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu uji kualitatif dan uji kuantitatif. Dalam uji kuantitatif bakteri tidak dapat terdeteksi karena pertumbuhannya tertutup oleh mikroba-mikroba lainnya yang terdapat pada makanan. Dalam uji kualitatif diperlukan tahap untuk dapat memperbanyak jumlah bakteri-bakteri patogen sehingga memudahkan untuk mendeteksi dan mengisolasinya, tahap-tahapannya terdiri dari tahap perbanyakan (*enrichment*) yaitu memperbanyak jumlah bakteri yang akan diuji, sedangkan bakteri lainnya dihambat pertumbuhannya. Tahap kedua seleksi yaitu menumbuhkan pada medium selektif sehingga koloni bakteri yang akan diuji mudah diisolasi, tahap ketiga isolasi yaitu memisahkan bakteri yang akan diuji dari mikroba lainnya, tahap keempat yaitu identifikasi primer yaitu membedakan bakteri yang diuji dari bakteri lainnya yang sifatnya berbeda, tahap kelima identifikasi lengkap yaitu membedakan bakteri yang diuji dari bakteri-bakteri lainnya yang sekelompok dengan sifat sifat yang hampir sama (Fardiaz, 1993).

2.11 Nilai pH

Pengukuran dan pengontrolan pH dalam mengontrol kualitas sangat berguna dalam industri makanan khususnya dalam penggunaan dan kontrol mikroorganisme dan enzim. Apabila ditambahkan komponen lain seperti gula, garam, tepung maka air yang bebas tersebut akan diikat lagi oleh komponen tambahan tersebut sehingga kapasitas pengikatan air dan komponen atau bahan mempengaruhi jumlah air sisa yang akan digunakan untuk pertumbuhan mikrobia (Kartika bambang, 1990).

Kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH sekitar 6,6-7,5 dan hanya beberapa yang dapat tumbuh dibawah pH 4.0. Makanan yang mempunyai kebanyakan bakteri tidak dapat tumbuh pada pH dibawah 4.0 dan diatas 8.0, oleh karena itu makanan yang mempunyai pH lebih rendah akan semakin awet karena semakin sedikit jenis mikroorganisme yang dapat tumbuh. Nilai pH minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme kadang-kadang dipengaruhi oleh jenis asam yang terdapat pada makanan tersebut, sebagai contoh beberapa *Lactobasili* dapat tumbuh pada pH yang lebih rendah jika asam yang terdapat pada makanan tersebut berupa asam laktat atau asam asetat (Fardiaz, 1993). Umumnya nilai pH bahan pangan berkisar 3.0 - 8.0. Kebanyakan mikroorganisme tumbuh pada pH 5.0 – 8.0. Bakteri proteolitik, gram negatif berbentuk batang tidak dapat tumbuh pada bahan pangan yang bersifat asam seperti produk-produk fermentasi (Supardi dan Sukamto, 1999)

2.12 Nilai a_w

Kadar air dalam bahan makanan juga dikenal sebagai aktivitas air /*water activity* (a_w). a_w suatu bahan dinyatakan dalam skala 0 sampai 1. Agar air tidak dapat lagi dimanfaatkan oleh mikroba dapat dilakukan berbagai cara diantaranya dengan melarutkan berbagai jenis bahan yang mudah larut atau ion-ion ke dalam suatu bahan misalnya gula atau garam. Larutan yang digunakan adalah larutan NaCl dimana larutan tersebut bersifat isotonik yaitu konsentrasi cairan lingkungan setara dengan sel mikroorganisme dalam lingkungan ini sel tidak mengalir keluar demikian pula cairan dari lingkungan tidak masuk ke dalam sel (Lay, 1994). Beberapa mikroba mampu menyesuaikan diri terhadap lingkungan. Mikroba tersebut adalah mikroba

yang dapat tumbuh baik dalam keadaan anaerobik/aerobik dan disebut anaerobik fakultatif atau aerobik fakultatif. Sumber energi yang paling banyak digunakan oleh mikroba adalah karbohidrat termasuk gula, asam amino sebagai sumber energi. Sumber nitrogen adalah senyawa-senyawa peptida, asam amino, urea, amonia atau protein (Winarno, 1994).

Reaksi aktivitas enzimatik, degradasi klorofil, hidrolisis sukrosa juga dipengaruhi oleh adanya air dan nilai a_w . Umumnya reaksi akan berbeda nyata di atas kondisi lapisan air tunggal dan akan terus meningkat dengan meningkatnya nilai a_w . Pada kondisi tertentu kecepatan reaksinya dapat menurun bila *dilution effect* terjadi. Akhirnya nilai a_w juga akan berpengaruh pada tingkat penerimaan konsumen yang berhubungan dengan tekstur. Dengan pengendalian nilai a_w dari rendah ke tinggi akan mengakibatkan perubahan tekstur dari kering menjadi berair, renyah menjadi lembek maupun keras menjadi lunak (Kartika bambang, 1990).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian

3.1.1 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diperoleh dari pasar Gadang Malang. Adapun bahan tambahan yang digunakan meliputi natrium nitrit (NaNO_2), natrium nitrat (NaNO_3), garam dapur (NaCl), lemak sapi yang dibeli di pasar besar, isolat protein kedelai yang dibeli dari Singapura, gula (sukrosa, glukosa dan fruktosa), lada hitam, lada putih, ketumbar, jahe, kayu manis, bawang putih dan cengkeh yang dibeli di pasar besar. Sedangkan untuk aquadest diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan, dan Aquabidest dari Laboratorium Kimia Panadia Malang, casing kolagen sebagai selongsong sosis diperoleh dari UD Pasar Kaliki Bandung. Sementara kultur starter yaitu *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* pada 10^8 cfu/ml diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bahan analisa mikrobiologi yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA), MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) dan VRBA (*Violet Red Bile Agar*).

3.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 macam yaitu peralatan yang digunakan selama proses pembuatan sosis dan peralatan yang digunakan selama analisa mikrobiologi. Untuk peralatan yang digunakan dalam pembuatan sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clariaas gariepinus*) meliputi pisau,

talenan, baskom, timbangan analitik, *mixer*, blender, panci, lemari asap, kipas angin, termometer, sealer, gunting, inkubator, dan freezer.

Sedangkan peralatan yang digunakan untuk nalisa mikrobiologi sosis fermentasi diantaranya tabung reaksi, cawan petri, pipet volume 1 ml, pipet volume 10 ml, gelas ukur 100 dan 250 ml, beaker glass 600 ml, spatula, *colony counter*, erlenmeyer 500 ml, kompor gas, panci, *cruisable tank*, rak tabung reaksi, bunsen, inkubator, botol sprayer, autoclave, mortar, timbangan analitik, homogenizer, mikropipet, tissue, benang kasur dan kapas.

3.2 Metode penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang khusus membahas teknik pengumpulan dan penyajian data mengenai suatu keadaan agar bersifat informatif atau dapat menjelaskan karakter suatu keadaan (Kemas, 2006). Metode deskriptif dilakukan dengan mengumpulkan data, penyajian, penentuan nilai-nilai statistik, pembuatan diagram atau gambar mengenai sesuatu hal, disini data hanya disajikan dalam bentuk yang lebih mudah dipahami atau dibaca (Subagyo, 1985). Untuk menggambarkan kondisi mikrobiologi sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) selama 28 hari pemeraman, maka dalam pembuatannya ditambahkan isolat protein kedelai 0%, 1.25%, 2.5%, 3.75% dan 5% kemudian dilakukan uji mikrobiologi yaitu total

bakteri, total bakteri asam laktat dan bakteri koliform dengan pH dan aw sebagai data pendukung.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Proses pembuatan sosis fermentasi ikan lele dumbu (Aryanta *et al.*, 1991)

- a) Daging ikan yang telah dipisahkan dari kotoran dan kulit dicuci bersih dan dihaluskan dengan menggunakan blender kemudian ditimbang sebanyak 500 gram.
- b) Adonan yang sudah ditimbang ditambahkan nitrat sebanyak 0,2 g/kg, nitrit sebanyak 0,1 g/kg, dan garam 20 g/kg (Zaenal, *et al.*, 2007), yang ketiga bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dalam 50 ml aquades, selain itu ditambahkan lemak sapi sebanyak 2,5% (Gunaryadi, *et al.*, 2007) kemudian diaduk secara rata.
- c) Dibungkus plastik *polypropilen* semi *vacuum* dan disimpan dalam freezer selama 24 jam.
- d) Kemudian dilakukan thawing pada suhu 30°C dan dilanjutkan homogenisasi dengan *mixer philips*. Kemudian ditambahkan bumbu-bumbu seperti lada hitam 1 g/kg; lada putih 1 g/kg, ketumbar 0,7 g/kg, jahe 0,7 g/kg, kayu manis 0,6 g/kg, bawang putih 0,5 g/kg, cengkeh 0,5 g/kg, sukrosa 4 g/kg, glukosa 3 g/kg dan fruktosa 3 g/kg, kemudian ditambahkan starter *pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* 2 ml/500 gram daging lele pada 10^8 cfu/ml (Heruwati *et al.*, 1997) Diaduk secara rata. Kemudian ditambahkan

isolat protein kedelai secara keseluruhan sebanyak 0%, 1,25%, 2,5%, 3,75%, dan 5% (USDA dalam Rust 2007).

- e) Setelah itu dilakukan pengisian kedalam casing berupa kolagen yang panjangnya 10 cm dengan diameter casing 2,5 cm
- f) Dikemas dengan kantong plastik *polypropilen* semi vacuum dengan tebal plastiknya 0,08 mm
- g) Setelah itu difermentasi pada suhu 30-32°C selama 32 jam
- h) Dilakukan pengasapan pada suhu 55-60°C selama 4 jam.
- i) Dilakukan penimbangan susut berat
- j) Kemudian diinkubasi komersial pada suhu 15-20°C dengan RH 80-95%.
- k) Dilakukan uji mikrobiologi yaitu analisa total bakteri, total patogen total bakteri asam laktat, analisa pH dan a_w selama 28 pemeraman.

3.4 Parameter Uji mikrobiologi

Parameter uji mikrobiologi meliputi analisa Total bakteri/*Total Plate Count* (TPC), Analisa total bakteri asam laktat dan analisa total bakteri patogen. Sedangkan parameter penunjang meliputi pH dan a_w .

3.4.1 Total Plate Count (Fardiaz, 1993)

- Sampel diambil secara aseptis sebanyak 1 gram sampel padat, diencerkan dalam 9 ml larutan pengencer. Larutan yang digunakan dapat berupa larutan *fosfat buffer*, larutan garam fisiologis 0,85%. Pengenceran dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1: 100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1: 1000000 dan seterusnya. Diambil hasil pengenceran diatas secara aseptis

dan dilakukan pengenceran beberapa kali. Setiap selesai pengenceran dilakukan pengocokan 25 kali agar sel mikroba terpisah.

- Diinokulasi pada cawan petri sebanyak 1 ml untuk setiap pengenceran secara duplo. Sebaiknya waktu antara mulainya pengenceran sampai menuangkan ke dalam cawan tidak boleh lebih lama dari 30 menit
- Dituangkan agar steril (PCA) sebanyak 15 ml dengan suhu agar 50°C dan petridish ditutup (selalu dalam kondisi aseptis)
- Segera setelah penuangan, cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati dengan gerakan melingkar.
- Setelah agar padat cawan-cawan tersebut dapat diinkubasi pada inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 35-37°C selama 48 jam dan dihitung koloni yang tumbuh.
- Penghitungan:
Faktor pengenceran = Pengenceran x Jumlah yang ditumbuhkan
Jumlah koloni = Jumlah koloni x 1/ faktor pengenceran per cawan.

3.4.2 Total Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen (Fardiaz, 1993)

Analisa total bakteri asam laktat dan total bakteri patogen baik prosedur maupun cara perhitungan sama dengan analisa Total bakteri hanya saja pada analisa total bakteri asam laktat menggunakan media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*)

dan pada analisa total bakteri patogen menggunakan media VRBA (*Violet Red Bile Agar*).

- Sampel diambil secara aseptis sebanyak 1 gram sampel padat, diencerkan dalam 9 ml larutan pengencer. Larutan yang digunakan dapat berupa larutan *fosfat buffer*, larutan garam fisiologis 0,85%. Pengenceran dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1: 199, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1: 1000000 dan seterusnya. Diambil hasil pengenceran diatas secara aseptis dan dilakukan pengenceran beberapa kali. Setiap selesai pengenceran dilakukan pengocokan 25 kali agar sel mikroba terpisah.
- Tabung reaksi berisi NaCl dan sampel untuk analisa Bakteri asam laktat (BAL) dan patogen diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk Patogen dan 48 jam untuk BAL pada suhu 32°C
- Diinokulasi pada cawan petri sebanyak 1 ml untuk setiap pengenceran secara duplo. Sebaiknya waktu antara mulainya pengenceran sampai menuangkan ke dalam cawan tidak boleh lebih lama dari 30 menit
- Dituangkan agar stereril (MRSA/VRBA) sebanyak 15 ml dengan suhu agar 50°C dan petridish ditutup (selalu dalam kondisi aseptis)
- Segera setelah penuangan, cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati dengan gerakan melingkar.
- Setelah agar padat cawan-cawan tersebut dapat diinkubasi pada inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 35-37°C selama 48 jam dan dihitung koloni yang tumbuh.

- Penghitungan:

Faktor pengenceran = Pengenceran x Jumlah yang ditumbuhkan

Jumlah koloni = Jumlah koloni x 1/ faktor pengenceran per cawan.

Pengamatan dan penghitungan (Fardiaz, 1993)

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni
3. Suatu daerah koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

3.4.3 a_w (Kartika bambang, 1992)

Aktivitas air merupakan jumlah air yang terdapat dalam bahan pangan atau larutan. Air mempunyai nilai a_w 1. a_w digunakan oleh mikroorganisme yang hidup di alam bahan pangan. Jenis mikroorganisme yang berbeda membutuhkan jumlah air yang berbeda pula untuk pertumbuhannya. Prosedur pengujian a_w sebagai berikut:

- a) Lakukan preparasi sampel yang akan diperlakukan
- b) Siapkan gelas piala, gelas besar dan kertas *whatman* yang telah dikonstankan.
- c) Masukkan sampel ke dalam gelas kecil kemudian prosedur selanjutnya sama dengan penentuan kurva standar nilai a_w

- d) Setelah diketahui berat air yang diserap pada kertas *whatman*, kemudian plotkan hasil tersebut pada kurva standar yang telah ada sehingga diperoleh nilai a_w untuk bahan makanan yang diukur.

$$a_w = \frac{P_x}{p_w} = \frac{E. R. H}{100}$$

$$a_w = t \frac{M_w}{(M_w + M_s)}$$

a_w = Aktivitas air

P_x = Tekanan parsial uap air pada bahan makanan

P_w = Tekanan saturasi uap air suhu yang sama

E.R.H = Kelembaban relatif seimbang

M_w = Jumlah mol air

M_s = Jumlah mol zat terlarut

T = Koefisien aktivitas (untuk larutan ideal=1)

3.4.4 pH (Kartika bambang, 1992)

Prinsip analisa pH adalah berdasarkan jumlah ion H^+ dalam bahan pangan. Nilai pH ini ditentukan dengan menggunakan pH meter. Prosedur pengujian pH sebagai berikut:

- Siapkan pH meter *Corning* dan hubungkan ke sumber arus yang sesuai
- Biarkanlah selama kurang lebih 10 menit untuk pemanasan
- Aturlah tombol pengatur suhu pada alat disesuaikan dengan suhu sampel yang akan diukur

- d) Cucilah elektroda dengan aquadest dan bersihkan dengan kertas tissue
- e) Kalibrasikan alat dengan menggunakan larutan *buffer*. Caranya adalah dengan memasukkan elektroda pada larutan *buffer*, kemudian aturlah besarnya pH dengan memutar tombol pengatur pH yang besarnya disesuaikan dengan pH larutan *buffer* lalu tekan tombol stand by
- f) Angkatlah elektroda kemudian cuci kembali dengan aquadest dan bersihkan dengan kertas tissue. Siapkan larutan yang akan diukur pH nya pada beker glass
- g) Masukkan elektroda pada sampel kemudian putarlah tombol pada pH
- h) Besarnya pH sampel dapat dapat dibaca pada skala yang ada
- i) Setelah selesai pembacaan pH nya kemudian tombol dikembalikan pada posisi stand by
- j) Cucilah kembali elektroda dengan aquadest dan keringkan dengan kertas tissue dan elektroda dimasukkan kembali ke larutan *buffer* dan matikan alat.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter uji mikrobiologi ini meliputi total bakteri, total bakteri asam laktat dan total bakteri patogen, sedangkan sebagai penunjangnya meliputi pH dan a_w .

Tabel 1. Data hasil uji mikrobiologi sosis fermentasi (*Clarias gariepinus*)

Parameter Mikrobiologi	Waktu Pemeraman (hari)	Isolat Protein Kedelai				
		0%	1,25%	2,5%	3,75%	5%
Total Bakteri (cfu/gr x 10 ⁵)	0	7.46±0.22	7.57±0.06	7.46±0.12	7.47±0.04	7.57±0.05
	7	7.37±0.40	7.52±0.09	7.63±0.10	7.52±0.34	7.44±0.23
	14	6.53±0.30	7.28±0.20	7.68±0.11	7.68±0.06	7.67±0.21
	28	6.76±0.28	6.94±0.32	7.35±0.13	7.26±0.40	7.02±0.47
Total BAL (cfu/gr x 10 ³)	0	5.68±0.07	5.75±0.12	5.70±0.07	5.69±0.13	5.76±0.07
	7	5.07±0.23	5.90±0.21	5.69±0.32	5.74±0.16	5.57±0.34
	14	5.80±0.22	6.54±0.34	6.77±0.33	6.66±0.36	6.79±0.20
	28	5.63±0.28	5.58±0.35	5.82±0.18	5.70±0.04	5.97±0.37
Bakteri koliform (patogen) (cfu/gr x 10 ¹)	0	-	3.49±2.01	2.11±1.22	1.30±0.75	2.40±1.97
	7	2.33±0.37	-	2.08±1.20	1.60±0.93	2.42±1.39
	14	-	2.41±1.31	1.48±0.85	2.92±1.69	2.24±1.26
	28	-	-	-	-	-
pH	0	4.59±0.01	4.61±0.01	4.62±0.01	4.63±0.02	4.69±0.01
	7	4.62±0.00	4.65±0.01	4.65±0.01	4.67±0.03	4.62±0.51
	14	4.74±0.04	4.76±0.09	4.84±0.01	4.70±0.08	4.83±0.03
	28	4.70±0.02	4.74±0.02	4.81±0.07	4.63±0.01	4.63±0.00
A _w	0	0.80±0.00	0.89±0.01	0.88±0.01	0.87±0.01	0.86±0.00
	7	0.82±0.01	0.80±0.01	0.83±0.01	0.83±0.01	0.82±0.01
	14	0.77±0.00	0.82±0.00	0.81±0.01	0.83±0.00	0.83±0.01
	28	0.74±0.01	0.75±0.01	0.75±0.00	0.76±0.00	0.75±0.00

Sumber: Data diambil sebagai rerata dari 3 variabel dengan standar deviasi

4.1 Isolat Protein Kedelai 0%

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh gambaran bahwa banyaknya total bakteri pada sosis fermentasi pada hari ke 0 cenderung meningkat dengan a_w 0,80 dan pH 4,59 namun belum terlihat adanya patogen. Tidak adanya patogen pada hari ke 0 ini bisa dimungkinkan karena adanya kondisi asam pada pH 4,59 akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat. Pada hari ke 0 pemeraman patogen tidak tumbuh bisa dimungkinkan karena ada spesies yang tidak mau berkembang biak pada suhu 32-35°C, suhu fermentasi pada sosis antara rentang suhu tersebut, disamping itu juga bisa dimungkinkan ada spesies yang berkembang biaknya lambat (Dwijoseputro, 1995). Disini dapat terlihat pula bahwa walaupun patogen tidak ada namun kondisi total bakteri cenderung meningkat hal ini bisa diakibatkan karena dalam daging ikan itu sendiri banyak mengandung protein alami walaupun tidak adanya penambahan isolat protein secara langsung. Peningkatan total bakteri juga bisa diakibatkan karena kondisi pada saat proses yang kurang saniter sehingga memacu perkembangan bakteri. Hal lain yang mendukung peningkatan jumlah bakteri yaitu bahwa bakteri memanfaatkan karbohidrat misalnya glukosa, fruktosa dan sukrosa sebagai sumber energi untuk pertumbuhan bakteri sehingga dapat memacu peningkatan bakteri (Supardi dan Sukamto, 1999).

Pada hari ke 7 pemeraman jumlah total bakteri cenderung menurun dengan pH dan a_w cenderung naik 0,82 serta terdapatnya patogen. Menurut Bouchant (1981) bahwa pada a_w 0,82 bakteri patogen yang tumbuh biasanya dari jenis *Staphylococcus* yang menghasilkan toksin yang kadang berbahaya yaitu *stafilolisin* penyebab

gangguan perut, bakteri ini banyak memanfaatkan nutrisi alami dari daging ikan tersebut. Hal ini juga diperkuat dengan kondisi bakteri asam laktat cenderung turun, dan pH yang naik.

Pada hari ke 14 pemeraman kondisi total bakteri cenderung menurun dengan bakteri asam laktat yang cenderung naik, dan didukung pula dengan kondisi pH asam sebesar 4,74 dan a_w 0,76 sehingga patogen pun tidak ada. Peningkatan bakteri asam laktat akan menyebabkan a_w turun dengan pH tetap dalam kondisi asam. Menurut Komprda *et al.*, (2001) bahwa penurunan total bakteri lebih sejalan dengan lamanya pemeraman (hari ke 0, 7, 14, 28, 35 dan 42 hari).

Pada hari ke 28 pemeraman kondisi total bakteri cenderung menurun dengan kondisi pH yang tetap asam 4,69 dan a_w 0,74 yang cenderung menurun. Dengan kondisi a_w yang rendah, dan pH asam menyebabkan patogen pun tidak tumbuh. Semakin lama pemeraman maka nilai a_w akan menurun. Tidak adanya patogen juga disebabkan karena nutrisi didalam medium sudah habis, energi cadangan didalam sel habis, jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, lingkungan, dan jenis jasad renik (Fardiaz, 1992). Akumulasi zat-zat metabolik yang ada dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Disamping itu juga adanya peningkatan jumlah bakteri asam laktat pada hari ke 28 merupakan fase pertumbuhan eksponensial dan produktivitas akan kembali stabil pada saat pertumbuhan sel memasuki fase stasioner dan tetap memproduksi sampai akhir fase stasioner (Sutoyo, 1998).

Matinya semua bakteri patogen pada hari ke 28 pemeraman bisa dikarenakan aktivitas bakteri asam laktat *Pediococcus acidilactici* dan *Lactobacillus casei* yang

memproduksi senyawa antimikroba yang potensial yaitu hidrogen peroksida, diasetil, bakteriosin dan asam organik (Cintas *et al.*, 1998 dalam Suarsana, 2001). Diasetil memiliki sifat antimikrobia hanya dalam konsentrasi yang tinggi. Bakteriosin merupakan substansi protein yang mempunyai berat molekul kecil serta memiliki aktivitas sebagai bakterisidal dan sintesis protein ini dikode oleh plasmid. Bakteriosin telah banyak dimanfaatkan sifat antagonistiknya dalam bidang biopreservatif pangan, kemampuannya dalam menghambat bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Jack *et al.*, 1996 dalam Suarsana, 2001). Pendapat ini juga didukung oleh beberapa penelitian diantaranya bakteriosin *pediocin* pada *Pediococcus acidilactici* mampu menghambat *Eschericia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* (Suarsana, 2001). Untuk Lebih jelasnya dapat dilihat pada Grafik pertumbuhan bakteri selama 28 hari pemeraman pada Lampiran 2.

4.2 Isolat Protein Kedelai 1.25%

Berdasarkan Tabel 1 dapat digambarkan bahwa pada hari ke 0 pemeraman kondisi total bakteri cenderung meningkat, dengan a_w 0,89 dan pH 4,61 yang cenderung meningkat serta masih terdapatnya bakteri patogen. Menurut Bouchant (1981) bahwa pada a_w 0,89 pada sosis fermentasi dengan kebanyakan bakteri patogennya bisa dimungkinkan adalah dari jenis *Micrococcus*. *Micrococcus* merupakan bakteri patogen yang mampu menghasilkan toksin. Dengan penambahan isolat protein kedelai 1,25% peningkatan total bakteri mulai terlihat dan adanya patogen, karena dalam isolat protein mengandung protein murni yang mengandung minimal 90% protein dari berat kering. Bahan makanan dengan kandungan protein demikian merupakan medium pertumbuhan mikroba (Winarno, 1993). Penguraian

protein tersebut dibantu juga oleh enzim proteinase (Soepardi dan Sukanto, 1999). Dipertegas pula oleh Wang *et al.*, (2001), bahwa isolat protein kedelai sangat berpotensi sekali terhadap kontaminasi silang mikroba sehingga meningkatkan pertumbuhan bakteri. Pada hari ke 0 pemeraman bakteri asam laktat belum terlihat peningkatan, hal ini bisa dikarenakan bakteri tersebut masih dalam tahap adaptasi. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Porcella *et al.*, (2000), bahwa bakteri asam laktat pada hari ke 0 sampai 5 pemeraman belum terlihat peningkatan karena masih dalam tahap adaptasi.

Pada hari ke 7 pemeraman kondisi total bakteri cenderung menurun dengan bakteri asam laktat yang cenderung naik, dan a_w yang cenderung menurun 0,80 dan pH 4,65 (pH asam) serta tidak adanya bakteri patogen. Tidak adanya patogen bisa disebabkan karena aktivitas bakteri asam laktat yang cenderung meningkat dan pH asam.

Pada hari ke 14 pemeraman kondisi total bakteri cenderung menurun dengan aktivitas bakteri asam laktat yang cenderung meningkat, pH dan a_w yang cenderung meningkat sehingga tidak heran patogen masih ada. Adanya patogen bisa diakibatkan karena bakteri memanfaatkan secara optimal nutrisi pada tahap logaritmik. Nutrisi yang terdapat pada sosis seperti nitrogen, karbon banyak digunakan untuk sumber energi, disamping itu juga dikarenakan adanya pemecahan protein menjadi asam amino dimana asam amino mempunyai peranan penting dalam metabolisme sel bakteri, senyawa yang disintesis adalah senyawa yang mengandung nitrogen sebagai sumber energi bakteri untuk pertumbuhan (Mudjiharto, 2005). Selain itu bakteri juga memanfaatkan nutrisi yang terdapat pada protein kedelai seperti globulin : 85%,

albumin: 5,5%, proteosa 4,5%, zat2 lain 5%. Globulin hampir 90% larut air. Dari kedelai dapat diisolasi zat nya berupa lesitin yang merupakan *fosfatidilkholin* yang mengandung selulosa 2% dan hemiselulosa 6% gula 14% (meliputi sukrosa, rafinosa, glukosa dan fruktosa tanpa karbohidrat). Kandungan vitaminnya meliputi beta karoten (pro vitamin A), thiamin, riboflavin, niasin, biotin, asam folat, inositol, asam askorbat. Mineralnya meliputi (kalsium, magneisum, fosfor, belerang, besi, tembaga, mangan dan besi) (Widiatmoko dan Hartomo, 1993).

Bila dilihat dari sisi emulsi sosis, terdapatnya bakteri patogen bisa dimungkinkan karena emulsi yang longgar karena penggunaan isolat protein kurang sesuai kurang dari 2% maka dimungkinkan emulsi yang terbentuk belum kuat dan terbentuklah rongga udara yang memungkinkan keberadaan bakteri patogen bisa tumbuh. Menurut peraturan 319 FSIS bahwa pemberian batas isolat protein sebesar 2% dari berat produk akhir. Menurut Winarno (1984), bahwa penambahan *emulsifier* yang sesuai dapat menghambat terjadinya *koalesensi* globula-globula minyak dan mencegah terjadinya pemecahan emulsi.

Keberadan patogen pada hari ke 14 mulai terlihat menurun dibandingkan hari ke 0 pemeraman. Ini biasa dikarenakan adanya aktivitas bakteri asam laktat dan lamanya pemeraman. Menurut Buckle *et al.*, (1987), bahwa *diacetyl* yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat menghambat dan mengurangi atau membunuh beberapa sel patogen.

Pada hari ke 28 pemeraman kondisi total bakteri dan bakteri asam laktat cenderung meningkat dan produktiitas bakteri asam laktat stabil sampai akhir pemeraman, hal ini pun didukung dengan menurunnya a_w dengan nilai a_w 0,79 dan

pH 4,7 sehingga patogen pun dapat dicegah pertumbuhannya. Bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan sosis ini adalah *Lactobacillus casei* dan *Pediococcus acidilactici*. Pertumbuhan bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan *Pediococcus acidilactici* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada konsentrasi 10^8 cfu/ml.

Bakteri asam laktat *Pediococcus* banyak ditemukan pada makanan fermentasi yang mengandung kedelai sehingga media yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Fardiaz, 1992). Dipertegas dalam penelitian Vural (1998), bahwa starter *Pediococcus acidilactici* pada sosis fermentasi *Turkish* mempunyai pengaruh yang sangat nyata meningkatkan kandungan asam laktat dan dapat meningkatkan penerimaan terhadap karakter warna, penampakan, flavour dan aseptabilitas dibandingkan *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus pentosaceus* sehingga patogen pun dapat dicegah pertumbuhannya. Dalam kultur campuran tersebut dapat terjadi interaksi baik yang bersifat positif. Kedua jenis bakteri tersebut hidup bersama dan mengadakan kegiatan yang tidak saling mengganggu, akan tetapi kegiatan masing-masing itu justru berupa suatu urutan yang saling menguntungkan, maka hubungan hidup antara kedua spesies itu disebut sinergisme (Dwidjoseputro, 2005).

4.3 Isolat Protein Kedelai 2.5%

Berdasarkan Tabel 1 dapat digambarkan bahwa kondisi total bakteri dan bakteri asam laktat pada hari ke 0 pemeraman cenderung menurun. Kondisi pH dan a_w yang cenderung meningkat sehingga bakteri patogen tumbuh. Tumbuhnya bakteri patogen bisa dikarenakan kondisi bakteri asam laktat yang belum memproduksi banyak asam laktat masih dalam tahap adaptasi sehingga tidaklah heran jika pH pun

cenderung naik yaitu 4,62. Menurut Bouchant (1981) pada a_w 0,88 bakteri patogen dari famili *micrococcus* bisa dimungkinkan tumbuh. Adanya bakteri patogen pada hari ke 0 ini bisa dimungkinkan karena peralatan yang dimungkinkan belum bersih atau adanya kontaminasi selama proses yang kurang bersih sehingga memacu timbulnya patogen. Menurut peraturan 319 FSIS (*Food Safety and Inspection Service*) bahwa batas pemberian isolat protein kedelai pada sosis frementasi sebanyak 2% dari berat produk akhir, hal ini dikarenakan dalam isolat protein kedelai tersebut banyak mengandung protein murni yang lebih besar, jika pemberian isolat protein kedelai melebihi batas tersebut akan berdampak pada kualitas makanan, sehingga tidaklah heran apabila pada konsentrasi 2.5% masih dimungkinkan adanya patogen yang tumbuh. Pada kedelai juga terdapat zat lesitin yang kompleks/fofolipida yang mengandung fosfor dan nitrogen dimana unsur tersebut merupakan sumber energi untuk pertumbuhan bakteri (Widiatmoko dan Hartomo, 1993). Hal ini pun diimbangi dengan peningkatan total bakteri yang cenderung meningkat.

Pada hari ke 7 pemeraman kondisi total bakteri cenderung meningkat, dan bakteri asam laktat yang cenderung menurun, kondisi pH dan a_w cenderung meningkat dengan demikian patogen pun masih bisa tumbuh. Adanya patogen pada 7 hari pemeraman bisa dimungkinkan karena aktivitas bakteri asam laktat, pH dan a_w yang cenderung meningkat, sehingga bakteri patogen banyak memanfaatkan kondisi tersebut dan memanfaatkan protein baik dari daging ikan maupun dari isolat protein kedelai. Meningkatnya total bakteri bisa dimungkinkan karena dalam protein kedelai banyak mengandung pepton yang merupakan protein yang mengandung N_2 sesuai

bagi kebanyakan bakteri, protein banyak mengandung C, H, O, N yang berguna bagi bakteri dalam menyusun protoplasma (Dwijoseputro, 2005).

Pada hari ke 14 pemeraman kondisi total bakteri, bakteri asam laktat dan patogen cenderung meningkat hal ini juga diimbangi dengan peningkatan pH dan a_w . Kecenderungan naiknya total bakteri dan bakteri asam laktat serta adanya patogen bisa dimungkinkan karena bakteri banyak memanfaatkan unsur-unsur nitrogen dalam isolat protein kedelai untuk pertumbuhannya pada tahap stationer yaitu di hari ke 14 pemeraman.

Pada hari ke 28 pemeraman kondisi total bakteri, pH dan a_w cenderung menurun, sedangkan bakteri asam laktat tetap berproduksi dan stabil sampai akhir pemeraman sehingga patogen pun tidak dapat tumbuh. Seiring semakin lamanya waktu pemeraman menyebabkan kondisi pH dan a_w pun cenderung menurun, dan aktivitas bakteri asam laktat cenderung stabil sehingga total bakteri menurun dan tidak adanya patogen. Menurut penelitian Komprda *et al* (2001), bahwa penurunan total bakteri lebih sejalan dengan lamanya pemeraman, pH pada hari ke 28 pemeraman cenderung. Menurut Sutoyo (1998), bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat pada fase pertumbuhan eksponensial dan produktivitas akan kembali stabil pada saat pertumbuhan sel memasuki fase stasioner dan tetap berproduksi sampai akhir fase stasioner. Asam laktat yang dihasilkan BAL akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi maka akan meningkatkan keasaman substrat tersebut, sehingga pH pun akan turun, disamping itu dengan meningkatnya asam akan memberi flavor pada sosis tersebut (Widowati, 2007). Menurut penelitian Porcella *et al.*, (2000), bahwa pertumbuhan bahwa bakteri asam laktat meningkat dan dapat

mencegah pertumbuhan bakteri patogen pada sosis fermentasi *chorizo* yang ditambahkan isolat protein kedelai 2.5% pada hari 14 dan 20 jumlah bakteri asam laktat, pertumbuhannya terjaga dan pertumbuhan bakteri patogen menurun.

Penurunan a_w pada hari ke 28 pemeraman juga bisa dikarenakan kemampuan Isolat protein kedelai dalam mengikat air dan menahannya sehingga air yang biasanya digunakan oleh mikroorganismenya dapat berkurang dan bakteri terganggu metabolismenya. Dipertegas pula menurut Luiza *et al.*, (2006), bahwa protein kedelai merupakan protein yang mempunyai keseimbangan asam amino dan kemampuan yang bagus dalam pembentukan gel dan *Water Holding Capacity*/kemampuan menahan air sehingga kandungan air pun berkurang dan menurunkan a_w . Protein yang terdapat pada isolat protein kedelai larut dalam air dan garam, komponen protein pun mampu berikatan dengan komponen lain yang terdapat pada sosis. Penurunan nilai a_w juga diimbangi dengan peningkatan total bakteri asam laktat pada hari ke 14 dan 28, disamping itu juga adanya penurunan total patogen yang menyebabkan nilai a_w cenderung menurun. Penambahan isolat protein kedelai sebesar 2,5% dapat mencegah *drip loss* pada sosis *chorizo* yang dikemas secara *vacuum* selama penyimpanan dingin (Porcella *et al.* , 2000).

4.4 Isolat Protein Kedelai 3,75%

Pada hari ke 0 pemeraman kondisi total bakteri cenderung meningkat, bakteri asam laktat cenderung belum memproduksi banyak asam laktat sehingga dapat meningkatkan nilai a_w dan patogen tumbuh. Adanya bakteri patogen pada hari ke 0 bisa dimungkinkan karena kandungan murni protein pada isolat protein kedelai serta

kondisi sanitasi saat pembuatan yang kurang bersih mampu memacu adanya bakteri patogen.

Pada hari ke 7 pemeraman kondisi total bakteri cenderung meningkat, dengan kondisi bakteri asam laktat yang cenderung menurun,. Pada hari ke 7 patogen masih ada. Kondisi pH dan a_w cenderung meningkat hal ini bisa dimungkinkan bakteri asam laktat, tpotal bakteri maupun patogen banyak memanfaatkan protein murni dari isolat protein kedelai sehingga memacu peningkatan pertumbuhannya .

Pada hari ke 14 pemeraman kondisi total bakteri dan bakteri asam laktat cenderung meningkat, dengan didukung kondisi pH dan a_w yang cenderung meningkat sehingga patogen pun masih bisa tumbuh. Pada tahap ini sel jasad renik membelah dengan cepat dan konstan, dimana kecepatan pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh médium tempat tumbuhnya (Fardiaz, 1992).

Pada hari ke 28 pemeraman kondisi total bakteri cenderung menurun, dan bakteri asam laktat yang cenderung meningkat, sejalan dengan lamanya pemeraman sehingga patogen pun tidak ada pada hari ke 28 pemeraman. Kondisi inipun didukung dengan pH dan a_w yang cenderung turun Tidak adanya bakteri patogen bisa dikarenakan karena lamanya pemeraman yang menyebabkan aktivitas bakteri asam laktat cenderung stabil, hal ini bisa terlihat dengan menurunnya nilai pH dan a_w serta tidak adanya patogen.

4.5 Isolat Protein Kedelai 5%

Pada lama pemeraman hari ke 0 untuk 5% isolat protein kedelai kondisi total bakteri dan bakteri asam laktat, kondisi pH dan a_w cenderung naik dan patogen pun masih bisa tumbuh. Adanya bakteri patogen bisa dikarenakan bakteri banyak

memanfaatkan protein murni yang lebih banyak dari isolat protein kedelai, hal ini pun bisa kemungkinan didukung dengan kondisi proses pembuatan yang bisa dimungkinkan kurang saniter sehingga memacu tumbuh kembangnya bakteri patogen.

Pada hari ke 7 pemeraman kondisi total bakteri, total bakteri asam laktat cenderung menurun, pH dan a_w yang cenderung meningkat sehingga patogen pun tumbuh. Peningkatan pH bisa dimungkinkan karena protein murni dari isolat protein kedelai yang mempunyai kelarutan tinggi sehingga dapat meningkatkan pH (Xie *et al.*, 1997). Adanya bakteri patogen dikarenakan bakteri banyak memanfaatkan unsur-unsur nitrogen pada isolat protein kedelai serta lingkungan sekitarnya.

Pada hari ke 14 pemeraman kondisi total bakteri dan bakteri asam laktat cenderung mengalami peningkatan yang tinggi dan akibatnya pH dan a_w pun bisa dimungkinkan naik sehingga kondisi inipun memacu patogen untuk tumbuh karena persediaan nutrisi yang masih banyak pada tahap logartimik. Munculnya patogen bisa dikarenakan adanya isolat protein sebanyak 5% yang memungkinkan nutrisi-nutrisi dalam isolat protein kedelai masih banyak digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Karena isolat protein itu sendiri mudah larut dan hal ini mampu meningkatkan nilai pH karena kelarutan protein tersebut (Xie *et al.*, 1997).

Selain karena kandungan nutrisi isolat protein, kondisi lain yang memacu adanya patogen bisa dimungkinkan dengan sistem emulsinya yang tidak stabil. Menurut Widiatmoko dan Hartomo (1993) bahwa zat lesitin pada kedelai ketika dimasukkan ke sistem majemuk pangan molekul-molekulnya mengatur diri, berarah energi rendah pada antarmuka, sebagai film molekul dan jembatan antar fasa, maka terjadilah emulsi yang stabil, baik air dalam minyak dan minyak dalam air dengan

pengadukan maka ukuran partikel fasa minyak pada emulsi *oil/water* diperkecil dan terdispersi baik pada fasa airnya. Molekul pengemulsi berkumpul pada antar muka. Makin kecil globula fasa terdispersi dalam fasa kontinyu, maka stabil emulsi tersebut. Namun karena penggunaan isolat protein sebesar 5% (melebihi batas peraturan 319 FSIS) mengakibatkan sistem emulsi sosis tidak stabil karena globula fasa yang terbentuk terdispersinya semakin besar dan jembatan antar fasa menjadi longgar yang pada akhirnya terdapat rongga-rongga udara dan dapat dimanfaatkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang biak hal ini dikarenakan pecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan, dengan demikian memberi peluang bakteri tumbuh karena longgarnya ikatan (Mudjiharto, 2005). Dalam buku tersebut juga disebutkan bahwa penggunaan lesitin jangan terlalu banyak karena tidak bagus untuk produk.

Peningkatan nilai pH pada hari ke 14 pemeraman juga bisa dilihat karena adanya aktivitas bakteri patogen dan total bakteri yang secara umum cenderung mengalami kenaikan. Naiknya pH pada hari ke 14 pemeraman bisa berkaitan dengan aktivitas proteolitik akibat aktivitas bakteri asam laktat yang merombak peptida dan asam amino serta NH_3 (Komprda *et al*, 2001). Naiknya nilai pH bisa juga disebabkan karena kelarutan protein yang terdapat pada isolat protein kedelai besar sehingga dapat meningkatkan nilai pH. Fluktuasi ini bisa disebabkan karena laju pertumbuhan bakteri pH mempengaruhi fungsi membran, enzim dan komponen sel lainnya. Pengaruh pH dapat menggumpalkan protein pada titik isolistriknya dan mempengaruhi kelarutan konstituen (Xie *et al.*, 1997). Disamping itu perubahan pH

dapat mempengaruhi permeabilitas sel. pH sosis fermentasi secara keseluruhan masih dalam kisaran pH tengah sosis fermentasi yaitu 4.5-5.3 (Supardi dan Sukamto, 1999).

Pada hari ke 28 pemeraman kondisi total bakteri, pH dan a_w cenderung menurun sedangkan bakteri asam laktat cenderung meningkat dan stabil di akhir pemeraman sehingga patogen pun tidak mampu tumbuh. Tidak adanya bakteri patogen bisa dikarenakan adanya aktivitas bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat yang banyak sejalan dengan lamanya waktu pemeraman, sehingga dengan produksi asam laktat yang banyak mampu menurunkan pH dan a_w yang pada akhirnya bakteri patogen pun tidak dapat tumbuh. Naik atau turunnya pH dari sosis fermentasi ikan lele dumbo pada penelitian ini dipengaruhi oleh aktivitas bakteri laktat asam laktat yang memproduksi asam laktat sebagai hasil metabolismenya.

Nilai pH pada hari ke 28 menurun dikarenakan waktu pemeraman yang lebih lama (Porcella *et al.*, 2000). Dimana dengan meningkatnya jumlah bakteri asam laktat maka akan diikuti dengan semakin menurunnya pH dan jumlah bakteri patogen. Kita dapat melihat bahwa total bakteri asam laktat pada hari ke 28 pemeraman cenderung lebih terjaga dan stabil sehingga produk inipun akan awet karena apabila bahan pangan mempunyai kandungan asam yang semakin tinggi, maka nilai pH juga akan semakin turun dan produk akan cenderung awet (Buckle *et al.*, 1987).

Dipertegas juga menurut penelitian Porcella *et al.*, (2000), bahwa pada pembuatan sosis fermentasi *chorizo* dengan penambahan isolat protein kedelai dapat menurunkan nilai pH secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Penggunaan asam dalam pengolahan bahan makanan mempunyai peranan yang bersifat antimikobia. Sifat tersebut karena penambahan asam akan mempengaruhi pH disamping juga

adanya sifat keracunan mikroba yang khas dari hasil uraiannya (Soepardi dan Sukamto, 1999). Menurut Zalacain *et al.*, (1994), penurunan pH selama fermentasi diakibatkan oleh adanya asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dari pemecahan glukosa menjadi asam piruvat yang kemudian diubah lagi menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat *Pediococcus acidilactici* lebih aktif memproduksi asam laktat pada pH berkisar 4,6 sampai 4,8. Sedangkan *Lactobacillus casei* tumbuh baik pada pH 3,5 dengan pertumbuhan optimumnya pada pH 6,8 (Ferrero *et al.*, 1986).

Dengan uraian-uraian tersebut dapat dilaporkan bahwa secara umum bakteri asam laktat, total bakteri, bakteri patogen banyak memanfaatkan protein murni pada isolat protein kedelai tersebut, hal ini bisa terlihat pada lama pemeraman ke 0, 7, dan 14 dan 28. Penurunan pH dan a_w serta bakteri patogen secara umum karena aktivitas bakteri asam laktat yang sejalan dengan lamanya masa pemeraman. Matinya bakteri koliform (patogen) dikarenakan adanya zat antimikrobia dari bakteri asam laktat yang bersifat bakterisidal, dan sejalan dengan lamanya pemeraman maka produksi asam laktat akan terus meningkat dan tetap stabil.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan gambarannya yaitu secara umum total bakteri, bakteri asam laktat dan bakteri patogen meningkat karena banyak memanfaatkan protein murni dari isolat protein kedelai baik pada konsentrasi 1.25%, 2.5%, 3.75% dan 5%. Total bakteri secara umum meningkat padahari ke 0, 7, 14 dan menurun pada hari ke 28 sejalan dengan lama pemeraman. Total bakteri asam laktat meningkat karena bakteri tersebut banyak memanfaatkan protein murni isolat protein kedelai sehingga dengan peningkatan aktivitas dan lama pemeraman mampu menurunkan pH dan a_w sosis. Penurunan a_w dan pH sosis bisa dimungkinkan karena isolat protein kedelai mempunyai kemampuan mengikat dan menahan air sehingga mampu membantu menurunkan a_w dan pH sosis tersebut. Bakteri koliform (patogen) secara umum tumbuh pada semua konsentrasi isolat protein dan mati di akhir pemeraman yaitu hari ke 28 pemeraman, hal ini bisa dikarenakan zat antimikroba pada bakteri asam laktat yang bersifat bakterisidal hal tersebut juga didukung dengan lamanya waktu pemeraman.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan disarankan agar dilakukan identifikasi total bakteri patogen sehingga keberadaanya dapat diketahui bakteri patogen apa yang dominan pada sosis fermentasi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryanta RW, Fleet GH, Buckle. 1991. *The Occurrence and Growth of Microorganism During the Fermentation of Fish Sausage*. Journal of Departement of Food Science and Technology. University of New South Wales, Kenington. Australia
- Anonymous. 2006. Mewaspada Si bulat Panjang Sosis. www. Indohalal.com
- Anonymous. 2007^b. Makanan dan Minuman Emulsi. www. Republika.co.id. Diakses tanggal 2 Agustus 2007. hal 2
- Ansori rahman. 1992. Teknologi Fermentasi. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Amri. 1998. Kajian Perubahan Kualitas Mikrobiologis Bekasam Ikan mujair (*Tilapia Mosambica*) selama Proses Fermentasi. Skripsi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Astawan, W. M dan Astawan M. 1989. Teknologi Pengolahan Pangan Hewani Tepat Guna. CV. Akademika Press Sindo. Jakarta.
- Bacus, J. 1984. *Utilization of Microorganism in Meat Processing*. Reserach studies Press Ltd. England.
- Bouchant. 1981. *Water Activity of Some Foods and Susceptibility to Spoilage by Microorganism*. Washingthon.
- Desrosier N. 1988. Teknologi Pengawetan Pangan. UI Press. Jakarta.
- Dwidjoseputro, 1998. Dasar-dasar Mikrobiologi . Djambatan. Jakarta.
- Dwidjoseputro, 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi cetakan ke enam belas. Djambatan. Jakarta.
- Fardiaz. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan Cetakan Pertama. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT Gramedia. Jakarta.
- Ferrero, G.J,B.R Funke and C. 2001. *Lactobacillus casei Microbiology An Introduction*. Addison Wesley.

- Fuller, R. 1992. *Probiotic: The Scientific Basis*. Chapman Hall. New York. Tokyo. Melbourne. Madras.
- Gunaryadi dan P. Ratnasari . 2007. Pengaruh Level Lemak Terhadap Karakteristik Fisika-Kimia dan Mikrobiologis Sosis Fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kemas Ali H. 2006. Dasar-dasar Statistika: Aneka bidang Ilmu Pertanian dan Hayati. PT. Raja Grafinndo Persada. Jakarta.
- Komprda, J. Neznalova, S. Standara, S. Bover-Cid. 2001. *Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage polican*. Departement of Food Technology Mendel University of Agriculture and Forestry Bro. Barcelona, Spain.
- Hidayati Dewi. 2002. Pengaruh Substitusi Tepung Tempe Terhadap Daya Awet Nugget Ikan Tuna (*Thunnus sp.*). Skripsi Teknologi Hasil Perikanan. Institut. Pertanian Bogor. Bogor
- Kartika Bambang. 1990. Petunjuk Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi.
- Kinsella, J.E. 1979. *Functional Properties of Soy Proteins*. Journal of American Oil Chemists Society. 56 (3), 242-258.
- Kinsella, J.E. & Damodaran, S (1980). *Flavour Problems in Soy Protein*. In Charamboulans, G. (Ed) analysis and control of less desirable flavours in food and beverage academic Press. New York.
- Kumalaningsih, S. 1989. Ilmu Gizi dan Pangan. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Kumar 2003. *Enzymatically modified soy protein Part I Thermal Behaviour*. Journal of Deparement of Biochemical Engineering and Biotechnology, Indian Institute of Technology, Delhi. India
- Machfud 1989. Fermentor. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Mudjiharto. 2005. Diktat Kuliah Biokimia Nutrisi Protein Ikan. Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

- Lay Bibiana. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Pederson, H. E. 1995. *Application of Soya Protein Concentrates in Processed Meat Product*. Experience from different Countries. *Fleischwirts charrft* 75 (6), 798-802.
- Porcella , 2000. *Soy Protein Isolated Added to Vacuum-Packaged Chorizoz: Effect on Drip Loss, Quality Characteristic and Stability during Refrigerated storage*. Instituto Technologia de alimentos (CA-NIA)-Argentina.
- Purnomo, H. 1995. *Aktivitas Air dan Peranannya dalam Pengawetan Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pederson, Sc. 1978. *Microbiology of Food Fermentation*. The Avi Publishing Company, Inc. Westport. Connecticut.
- Republika. 2007. Makanan dan Minuman Emulsi. [www. Republika.com](http://www.Republika.com)
- Russ Egbert. 2007. *Achieviing Success With Meat Analogs*. [Http//www. Ift.org](http://www. Ift.org).
- Rust, R. E. (1977). *Sausage and Processed Meat Manufacturing*. Amer Meat Institute., Washington, D C.
- Suarsana N. 2001. Aktivitas Invitro Senyawa Antimikroba dari Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana*. Bali.
- Suparno. 1992. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Gajah Mada University. Yogyakarta
- Sherrington dan Gaman. 1992. *Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Edisi Kedua Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Soenartono A. 1990 *Mikrobiologi Dasar* . Penerbit Erlangga. Jakrata.
- Somaatmadja Sadikin.1993. *Proses Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 1 Kacang-kacangan*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta)
- Santoso,B.A.S., E.Y Purwani dan Rijani. 1994. *Pembuatan Susu Kedelai Campuran dan Penyimpanan pada Suhu Rendah*. Media Penelitian Sukamandi. Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi. Jawa Barat.
- Soetomo, M.H.A. 2000. *Teknik Budidaya Ikan Lele Dumbo*. Sinar Baru Algenisindo. Bandung.
- Soenartono. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Erlangga. Jakarta.

- Soeparno. 1992. Ilmu dan Teknologi Dunia Daging. Yogyakarta Gajah mada University.
- Subagyo P. 1985. Statistik Deskriptif. Cetakan Kedua. Pencetak dan Penerbit BPFE. Yogyakarta.
- Supardi dan Sukamto. 1999. Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Penerbit Alumni. Bandung
- Suriawiria. 1996. Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis. Penerbit Alumni. Bandung
- Sudarisman, T dan Elvina, A, R. 1996. Petunjuk Memilih Produk Ikan dan Daging. Penebar Swadaya. Jakarta.
- USDA. 1999. *Safe Practices for Sausage Production*. The U.S. Department of Agriculture (USDA). USA.
- Vuyust, L. De and Vandamme, E. J. 1994. *Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria In: Vuyust, L De, and Vandamme, E.J. Bacteriosim of lactic acid Bacteria: Microbiology, Genetic, and Application*. Blackie Academic & Profesional. London.
- Vural H. 1998. *The Use Commercial Starter Cultures in The Production of Turkish Semi Dry Fermented Sausages*. Journal original paper. Hacettepe University. Faculty of Engineering Food Engineering Departement. Ankara. Turkey.
- Xie dan Hettiarachchy. 1997. *Xanthan Gum Effect On Solubility and Emulsification properties of Soy Protein Isolate*. Journal of Food Science. A Publication of the institute of Food Technologists
- Widowati S dan Miisgiyarta. 2007. BPPPS Genetik Pertanian. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Winarno. 1993. Pangan Gizi, Teknologi dan Konsumen. PT Gramedia. Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno. 1994. Sterilisasi Komersial Produk Pangan. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Widiatmoko dan Hartomo, 1993. Emulsi dan Pangan Instan Ber-Lesitin. Penerbit Andi Offset. Yogyakarta.

Wang 2001. *Functional Propertics of Hydrothermally Cooked Soy Protein Product*. Journal Departement of Food Science & Human Nutrition and cerber for Crops Utilization Research. Iowa state University. Iowa

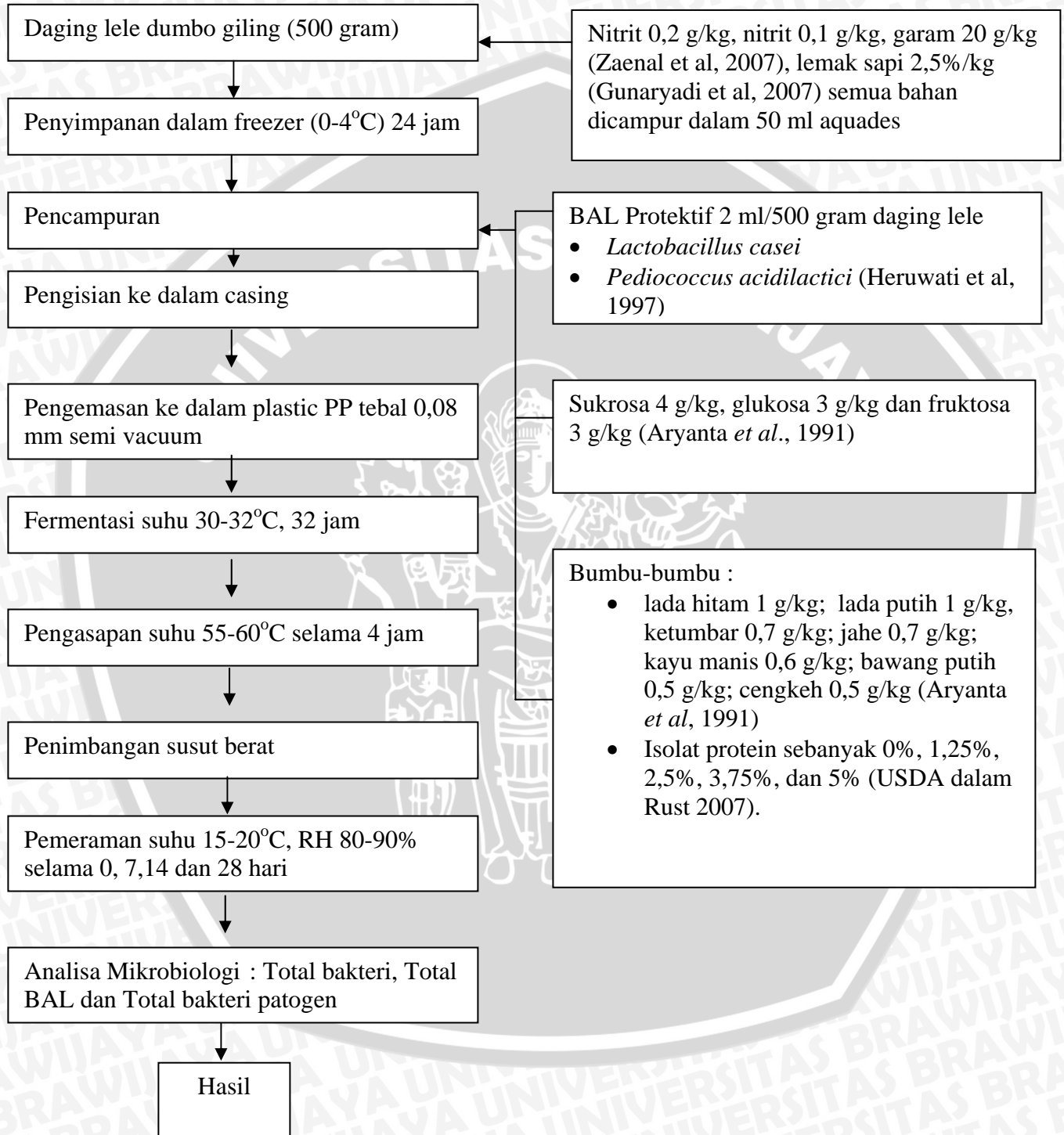
Zaenal dan Tsani. 2007. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi NaCl terhadap sifat kimiawi sosis fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

Zalacain, I., M.J. Zapelena, I. Astiasaran dan J. Bello. 1994. *Dry Fermented Sausage Elaborated with Lipase from Candida cylindracea*. Departamento de Bromatologia, Toxicologia y Tecnologia de 10s alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Spain.

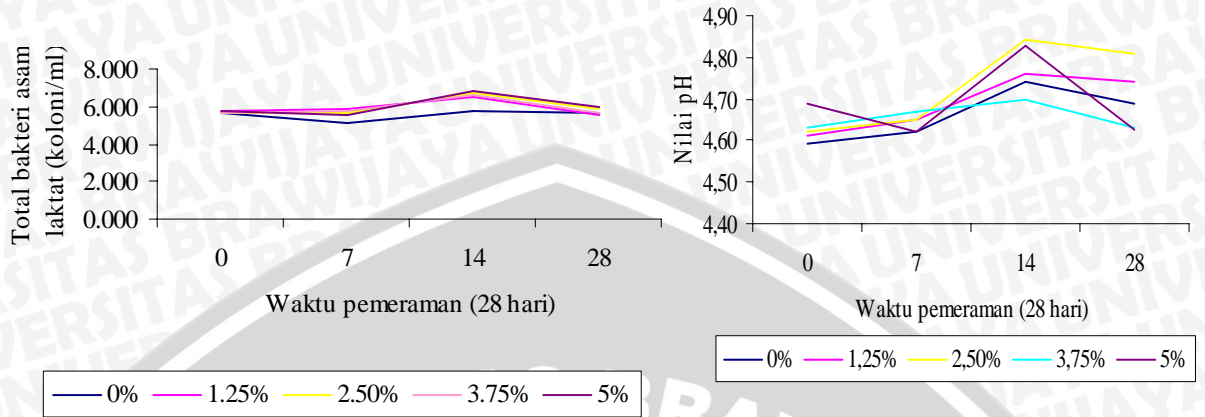


Lampiran 1.

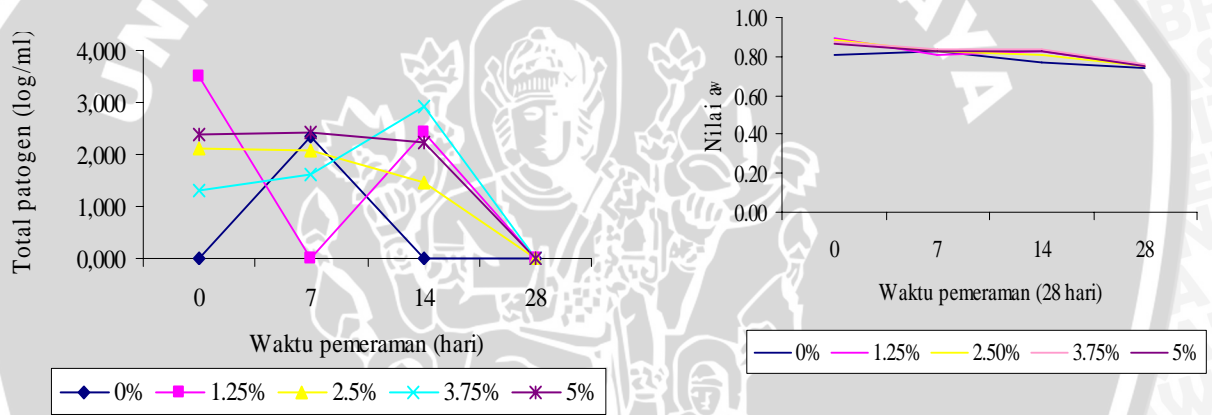
Skema Pembuatan Sosis Fermentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*)



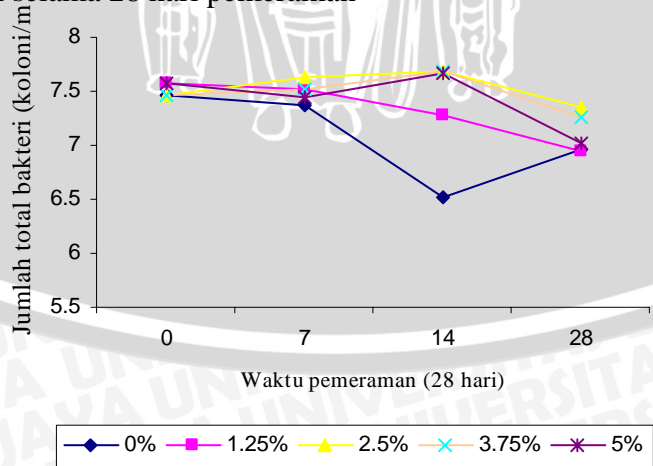
Lampiran 2. Pertumbuhan bakteri



Gb 1. Total bakteri asam laktat selama 28 hari pemeraman



Gb. 2. Total patogen selama 28 hari pemeraman



Gb. 3 Total Bakteri sosis fermentasi selama 28 hari pemeraman



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



