

Mikrobiologi

Hasil

Pertanian



Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc. adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Ia telah menyelesaikan pendidikan S3 pada tahun 2014 bidang Teknologi Industri Pertanian di Universitas Sriwijaya Palembang dan bidang Food Microbiology di New South Wales University Sydney Australia. Pendidikan S2 tahun 1991 diperoleh dari Kansas State University Mahattan Kansas

Amerika Serikat di bidang Food Microbiology setelah menyelesaikan pendidikan Sarjana S1 di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta bidang kajian Endokrinologi-Histologi.

Buku yang berjudul Mikrobiologi Hasil Pertanian ini digunakan sebagai buku pegangan atau bahan ajar pada Mata kuliah Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian atau mata kuliah yang berkaitan. Materi yang diulas dalam buku ini oleh penulis dikelompokkan ke dalam 7 Bab yaitu Mikroba Penting dalam Makanan, Faktor Pertumbuhan Mikroba, Metode Analisis dalam Mikrobiologi Pangan, Mikroba Probiotik, Kerusakan Makanan oleh Mikroorganisme, Pengendalian Mikroba dalam Makanan, dan Mikroba Patogen dalam Makanan. Materi yang dibahas dalam buku ini bermanfaat untuk mendukung kompetensi lulusan Program Studi S1 Teknologi Hasil Pertanian dan Teknologi Industri Pertanian.



 penerbit.pusaka
 pusakamedia@gmail.com
 @pusaka_media



Mikrobiologi Hasil Pertanian

Maria Erna Kustyawati

Mikrobiologi

Hasil

Pertanian

MARIA ERNA KUSTYAWATI

Mikrobiologi
Hasil
Pertanian

Hak cipta pada penulis
Hak penerbitan pada penerbit
Tidak boleh diproduksi sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun
Tanpa izin tertulis dari pengarang dan/atau penerbit

Kutipan Pasal 72 :

Sanksi pelanggaran Undang-undang Hak Cipta (UU No. 10 Tahun 2012)

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal (49) ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau hasil barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

Mikrobiologi **Hasil** **Pertanian**

Maria Erna Kustyawati



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Mikrobiologi Hasil Pertanian

Penulis:

Maria Erna Kustyawati

Desain Cover & Layout

PusakaMedia Design

xvi + 248 hal : 15,5 x 23 cm
Cetakan, Juni 2020

ISBN: 978-623-7560-96-8

Penerbit

PUSAKA MEDIA

Anggota IKAPI

No. 008/LPU/2020

Alamat

Jl. Endro Suratmin, Pandawa Raya. No. 100

Korpri Jaya Sukarame Bandarlampung

082282148711

email : cspusakamedia@yahoo.com

Website : www.pusakamedia.com

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian
atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Buku ajar Mikrobiologi Hasil Pertanian ini berfungsi sebagai bahan ajar pada Mata kuliah Mikrobiologi Hasil Pertanian. Penulis buku ini memiliki cukup banyak pengalaman di bidang mikrobiologi khususnya mikrobiologi pangan baik dalam kegiatan laboratorium maupun tulisan yang dipublikasikan pada jurnal Nasional maupun Internasional. Materi yang dibahas dalam buku ini bermanfaat untuk mendukung kompetensi lulusan Program Studi S1 Teknologi Hasil Pertanian dan Teknologi Industri Pertanian. Dengan membaca buku ini, mahasiswa mendapatkan ilmu dan teknologi yang berhubungan dengan mikrobiologi pangan. Selain memperoleh ilmu dan teknologi, mahasiswa juga dapat menerapkan pada pengolahan pangan, pencegahan kerusakan bahan pangan, fermentasi pangan, dan cara pengendalian kerusakan pangan terutama yang disebabkan oleh mikroorganisme. Mahasiswa juga akan lebih mudah melakukan penelitian laboratorium yang berkaitan dengan mikrobiologi. Dengan adanya bahan ajar ini diharapkan mahasiswa menjadi lebih mudah mengikuti proses pembelajaran sesuai dengan standar kompetensi yang diharapkan karena dalam pembahasan materi dilengkapi dengan tabel dan gambar untuk membantu pemahaman pembaca. Kami juga berharap agar bahan ajar ini dapat memicu kreativitas mahasiswa untuk lebih mendalami peran mikrobiologi di dalam pengembangan ilmu dan teknologi pangan.

Materi dalam buku ini dikelompokkan ke dalam 7 Bab meliputi Mikroba Penting dalam Makanan, Faktor Pertumbuhan Mikroba, Metode Analisis dalam Mikrobiologi Pangan, Mikroba Probiotik, Kerusakan Makanan oleh Mikroorganisme, Pengendalian Mikroba dalam Makanan, dan Mikroba Patogen dalam Makanan.

PRAKATA

Puji syukur penulis penjatkan kehadiran Allah Subhanallahuwata'ala, yang telah memberikan rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya, sehingga dapat menyelesaikan bahan ajar dengan judul Mikrobiologi Hasil Pertanian.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Pertanian, Ketua Jurusan Hasil Pertanian, Ketua Prodi Teknologi Industri Pertanian dan Ketua Prodi Teknologi Hasil Pertanian yang telah mendukung dalam penulisan bahan ajar ini, serta terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penyusun dalam menyelesaikan bahan ajar ini.

Penulis merasa penyusunan bahan ajar ini sangat penting khususnya untuk mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan dapat dijadikan sebagai salah satu literatur pada pengajaran dan penelitian dibidang yang terkait. Penyusunan bahan ajar ini merupakan tugas mulia dalam hal membagi pengetahuan dan informasi untuk pembaca. Bahan ajar ini disusun dari beberapa buku acuan dan publikasi ilmiah. Bahan ajar ini masih belum sempurna, sumbang saran untuk perbaikan bahan ajar ini sangat diharapkan.

Penulis

Diskripsi Mata Kuliah

Mata kuliah ini menjelaskan tentang jenis-jenis mikroba penting dalam bahan pangan (nabati, hewani), pengaruh faktor intrinsik dan ekstrinsik terhadap pertumbuhan mikroba dalam bahan pangan, analisis kualitatif dan kuantitatif, kerusakan pangan yang disebabkan oleh mikroba, pengendalian mikroba dalam pangan, dan pemanfaatan mikroba dalam produk pangan, serta mikroba patogen dalam makanan.

Standar Kompetensi.

Mahasiswa mempunyai kemampuan menjelaskan jenis mikroba penting dalam pangan, menganalisis peranannya dalam produk pangan. Mahasiswa juga dapat menganalisis kerusakan pangan yang disebabkan oleh mikroba dan cara mengendalikan mikroba dalam pangan. Mahasiswa memahami makanan pembawa penyakit yang disebabkan oleh aktivitas mikroba dan cara melakukan analisis mikroba dalam pangan.

Kompetensi dasar.

- Mahasiswa dapat memahami faktor mendasar dari Mikrobiologi Hasil Pertanian
- Mahasiswa dapat memahami mikroba pembusuk makanan dan dapat melakukan pencegahan kerusakan pangan Hasil Pertanian.
- Mahasiswa dapat memahami dan melakukan tindakan terhadap bakteri patogen yang ditularkan melalui makanan Hasil Pertanian.
- Mahasiswa dapat memahami dan menjelaskan mengenai manfaat mikroba dalam fermentasi pangan Hasil Pertanian.
- Mahasiswa dapat memahami dan melakukan analisis mikrobiologi pada bahan pangan Hasil Pertanian.

Materi Pokok.

1. Mikroorganisme penting dalam pangan
2. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kematian mikroorganisme pada pangan.
3. Mikroba probiotik.
4. Mikroba penyebab pembusukan pangan.
5. Pengendalian mikroba pembusuk makanan meliputi pengendalian secara fisik, kimia, dan biologi.
6. Bakteri pathogen yang dapat ditularkan melalui makanan.
7. Metode analisis mikrobiologis dalam pangan.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
BAB I. MIKROORGANISME PENTING DALAM PANGAN.....	1
1. PENDAHULUAN	1
2. PENYAJIAN.....	2
1. Golongan kapang	2
2. Golongan khamir	3
3. Golongan virus.....	4
4. Golongan bakteri.....	5
3. RINGKASAN	15
LATIHAN	16
BACAAN YANG DIANJURKAN	17

BAB II . FAKTOR PERTUMBUHAN MIKROBA.....	18
1. PENDAHULUAN	18
2. PENYAJIAN	19
1. Faktor intrinstik dan ekstrinsik dalam makanan	19
2. Faktor faktor lain	57
3. Metabolisme nutrisi oleh mikroorganisme.....	58
4. Preferensi dalam utilisasi senyawa gizi oleh Mikroorganisme.....	58
3. RINGKASAN	59
LATIHAN	61
BACAAN YANG DIANJURKAN	63
BAB III. METODA ANALISIS MIKROBIOLOGI PANGAN.....	64
1. PENDAHULUAN	64
2. PENYAJIAN.....	65
1. Kuantifikasi mikroorganisme dalam pangan	65
2. Standar perhitungan mikroba dalam cawan petri.....	69
3. Cara perhitungan total mikroba.....	71
4. Perhitungan dengan Most Probable Number.....	72
5. Penghitungan mikroba secara langsung dan tidak Langsung	72
6. Organisme injuri metabolic	73
7. Uji Sub lethal injuri	73
8. Recoveri/repair	74
9. Viable tapi tidak culturable	74
10. Uji Salmonella.....	75

11. Uji Listeria	76
12. Uji Catalase	77
13. Uji Motility Lactobacilli.....	77
14. Uji Pertumbuhan Lactobacilli dalam 6,5% NaCl.....	77
15. Pembuatan tepung kultur campuran secara kering...	77
16. Pembuatan kultur starter tunggal.....	78
3. RINGKASAN	79
LATIHAN	80
BACAAN YANG DIANJURKAN	81
BAB IV . MIKROBA PROBIOTIK	82
1. PENDAHULUAN	82
2. PENYAJIAN.....	84
1. Bakteri asam laktat dalam fermentasi	84
2. Probiotik	87
3. Prebiotik	93
4. Sinbiotik.....	94
5. Tantangan untuk formulasi probiotik	96
6. Perdebatan peran probiotik dan prebiotic	97
7. Probiotik khamir	97
8. Probiotik bakteri asam laktat	107
3. RINGKASAN	115
LATIHAN	117
BACAAN YANG DIANJURKAN	119

BAB V. KERUSAKAN PANGAN OLEH MIKROORGANISME ...	120
1. PENDAHULUAN	120
2. PENYAJIAN.....	122
1. Spoilage detection Level (SDL).....	122
2. Mikroba dominan dalam pembusukan makanan	123
3. Bakteri utama yang berperan dalam pembusukan Makanan	124
4. Indikator kerusakan makanan	124
5. Kerusakan pada buah dan sayuran	128
6. Kerusakan pada daging	135
7. Kerusakan produk hasil perairan	139
8. Kerusakan pada telur.....	141
9. Kerusakan pada susu dan produk susu olahan.....	142
3. RINGKASAN	147
LATIHAN	149
BACAAN YANG DIANJURKAN	151
BAB VI. PENGENDALIAN MIKROBA DALAM PANGAN.....	152
1. PENDAHULUAN	152
2. PENYAJIAN.....	154
1. Pengendalian dengan menurunkan nilai a_w	154
2. Pengendalian dengan Modified Atmosphere.....	160
3. Pengendalian dengan menurunkan Ph	163
4. Pengendalian dengan Garam dan Gula.....	173
5. Pengendalian menggunakan bahan dengan efek antimikroba secara tidak langsung.....	175

6. Pengendalian dengan Biokontrol	181
7. Pengendalian menggunakan senyawa saniter.....	185
8. Pengendalian menggunakan suhu rendah	187
9. Pengendalian menggunakan suhu beku	189
10. Pengendalian dengan pengeringan beku (freeze drying)	194
11. Pengendalian menggunakan suhu tinggi	200
12. Pengendalian menggunakan radiasi.....	206
13. Pengendalian dengan high pressure processing (HPP).....	215
3. RINGKASAN	217
LATIHAN	219
BACAAN YANG DIANJURKAN	222
BAB VII . MIKROBA PATOGEN MAKANAN.....	223
1. PENDAHULUAN	223
2. PENYAJIAN.....	224
1. Foodborne intoksikasi	224
2. Foodborne infeksi	227
3. Emerging foodborne pathogen.....	228
3. RINGKASAN	229
LATIHAN	230
BACAAN YANG DIANJURKAN.....	230
DAFTAR PUSTAKA.....	231
INDEKS.....	235
SENARAI.....	239

DAFTAR TABEL

2.1.	Kisaran nilai pH beberapa produk makanan.....	24
2.2.	Kisaran nilai pH pada mikroba.....	24
2.3.	Nilai a_w beberapa produk makanan	28
2.4.	Nilai a_w minimum untuk pertumbuhan mikroba penting dalam makanan	29
2.5.	Potensi Redoks beberapa produk makanan.....	32
2.6.	Bahan pengawet dan kombinasinya yang sering digunakan untuk Produk makanan tertentu.....	38
2.7.	Kisaran suhu pertumbuhan mikroba.....	48
2.8.	Kisaran nilai pH pertumbuhan pathogen dalam makanan.....	49
2.9.	Efek suhu dan waktu terhadap pertumbuhan bakteri.....	50
2.10.	Komposisi campuran gas untuk penyimpanan beberapa produk dengan teknik MAP	52
4.1.	Mikroorganisme probiotik dan manfaat kesehatan yang ditimbulkan	92
4.2.	Karakteristik prebiotik ideal.....	93
4.3.	Novel prebiotik dan probiotik.....	95
4.4.	Perbedaan utama sifat probiositas antara khamir dan bakteri	101

4.5. Similaritas dan diferensitas diantara <i>S. boulardii</i> dan <i>S. cerevisiae</i>	106
4.6. Distribusi dan komposisi mikroflora intestinal.....	107
4.7. Tipe-tipe produk probiotik dan bakteri probiotik yang digunakan	108
4.8. Efek probiotik terhadap kesehatan dan mekanismenya.....	111
5.1. Mikroba perusak pada setiap komoditi.....	125
5.2. Pengendalian kerusakan pada sayur dan buah dengan pengawetan	132
5.3. Senyawa penyebab off flavour pada buah sayur	134
5.4. Ciri-Ciri kerusakan pada ikan	140
5.5. Beberapa kerusakan susu dan mikroba penyebabnya	143
6.1. Produk pangan dengan kandungan air sedang (IMF/intermediate moisture foods).....	159
6.2. Bahan kimia yang tergolong GRAS sebagai pengawet makanan.....	164
6.3. Bahan antioksidan yang digunakan untuk makanan dan termasuk GRAS.....	175
6.4. Senyawa kimia yang digunakan untuk mengontrol pembusukan fungi pada buah segar	180
6.5. Perbedaan antara pengeringan beku dengan pengeringan biasa.....	197

DAFTAR GAMBAR

2.1. Kisaran nilai pH untuk pertumbuhan mikroba penyebab penyakit bawaan makanan.....	25
2.2. Pengaruh suhu atau pH pada waktu fase lag pertumbuhan <i>L. monocytogenes</i> dari USDA PMP ver 5.1 (2% NaCl, aw 0.989).....	46
4.1. Karakterisasi strain probiotik ideal.....	88
4.2. Manfaat kesehatan konsumsi probiotik.....	89
6.1. Beberapa perubahan kimia yang terjadi selama proses pemanasan pada makanan.....	157
6.2. Profil penurunan suhu pada proses pembekuan lambat dan pembekuan cepat.....	190
6.3. Diagram proses pengeringan.....	195
6.4. Diagram perbedaan pengeringan biasa dengan pengeringan beku.....	196
6.5. Suhu yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme.....	197

MIKROORGANISME PENTING DALAM PANGAN

Capaian pembelajaran: mampu menjelaskan signifikansi fungsi bakteri, kapang dan khamir yang terdapatnya secara alami dalam makanan tertentu.

1. PENDAHULUAN

Jika seseorang dapat memprediksi jenis mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan asal tumbuhan dan asal hewan sebagai habitat alaminya, maka jenis mikroorganisme yang kemungkinan terdapat dalam produk hasil olahan bahan pangan tersebut dapat diprediksi. Hasil dari analisis laboratorium menunjukkan bahwa makanan yang tidak diolah dapat diduga mengandung berbagai variasi jumlah bakteri, kapang, atau khamir, dan seringkali timbul pertanyaan yang berkaitan dengan keamanan pangan tersebut. Pertanyaan yang akan muncul seperti: Berapa jumlah total mikroorganisme per gram atau per mL, dan apa tipe atau jenis mikroorganisme yang mewakilinya? Oleh karena itu, sangat penting untuk mengetahui organisme apa saja yang terdapat dalam makanan yang spesifik sebagai habitat naturalnya, dan organisme kontaminan atau yang tidak secara alami terdapat dalam makanan tersebut. Dalam Bab ini dibahas jenis bakteri, kapang dan khamir spesifik yang terdapat secara alami dalam makanan tertentu, dan berbagai jenis bakteri yang mempunyai karakteristik tertentu.

2. PENYAJIAN

1. Golongan kapang

Kapang sangat penting dalam pangan karena kapang dapat tumbuh pada kondisi dimana kebanyakan bakteri tidak bisa tumbuh. Seperti kondisi pH rendah, aw rendah, dan kondisi bertekanan tinggi. Kapang sangat penting sebagai mikroba pembusuk makanan dan beberapa jenis kapang sebagai penghasil mikotoksin yang berkaitan dengan foodborne intoksikasi. Beberapa jenis kapang juga berperan dalam bioprosesing makanan, dan beberapa jenis kapang juga sebagai penghasil enzim dan food additive. Beberapa kapang penting dalam makanan adalah sebagai berikut.

1. *Aspergillus*. *Aspergillus* tersebar luas dan banyak jenis *Aspergillus* berperan penting dalam makanan. *Aspergillus* memiliki hyfa berseptat dan menghasilkan spora aseksual berwarna hitam pada konidianya, bersifat xerofilik (dapat tumbuh pada aw rendah), tumbuh pada biji bijian, dan menyebabkan pembusukan. *Aspergillus* penyebab pembusukan pada makanan jam, kacang kacangan, buah dan sayuran. *Aspergillus flavus* menghasilkan aflatoksin. *Aspergillus oryzae* digunakan untuk enghidrolisa pati oleh enzim alfa amilase pada pembuatan sake. *Aspergillus niger* digunakan untuk proses produksi asam sitrat dari sukrosa dan sebagai penghasil enzim beta-galaktosidase.
2. *Alternaria*. *Alternaria* berseptat dan membentuk spora berwarna gelap pada konidianya. *Alternaria* menyebabkan pembusukan pada tomat dan flavor tengik pada produk susu. Misalnya *Alternaria tenuis*.
3. *Geotricum candidum*. *G. candidum* berseptat dan membentuk arthrospora rectangular. *G. candidum* tumbuh membentuk koloni seperti khamir berwarna krem, seperti kapas/beludru. Tumbuh sangat mudah pada peralatan dan produk susu.
4. *Mucor rouxii*. *M. rouxii* tumbuh meluas dan memiliki beberapa jenis/spesies, membentuk koloni seperti kapas/cottony. Beberapa spesies digunakan dalam fermentasi makanan dan sebagai sumber enzim. Namun juga menyebabkan pembusukan pada sayuran.

5. *Penicillium*. *Penicillium* tersebar luas dan memiliki beberapa spesies. *Penicillium* memiliki hifa berseptat dan membentuk konidiofor berbentuk seperti sikat dan berwarna hijau kebiruan pada kepala konidia. Beberapa spesies digunakan dalam produksi pangan seperti *P. roquefortii* dan *P. camembertii* untuk produksi keju. Beberapa spesies menyebabkan pembusukan pada sayuran dan buah, juga pembusukan pada biji bijian, roti, dan daging. Beberapa spesies menghasilkan mikotoksin misalnya okratoksin.
6. *Rhizopus oligosporus*. *R. oligosporus* memiliki hifa berseptat dan membentuk sporangiofor dalam sporangium. Berperan dalam pembusukan buah dan sayuran. Menghasilkan spora berwarna hitam dan sering disebut kapang hitam.
7. *Aureobasidium (Pullularia)*. Koloninya menyerupai koloni khamir pada awalnya dan selanjutnya menyebar memproduksi spot hitam. Contohnya *Aureobasidium pullulans* sebagai kapang penting dalam makanan, ditemukan pada udang membentuk spot berwarna hitam, juga terdapat pada buah dan sayuran.

2. Golongan khamir.

Khamir penting dalam makanan karena dapat menyebabkan pembusukan. Namun, beberapa spesies juga bermanfaat dalam bioprosesing makanan, juga berfungsi sebagai penghasil food additive. Beberapa spesies penting sebagai berikut.

1. *Saccharomyces cerevisiae*. Sel berbentuk oval, bulat, atau memanjang. *S. cerevisiae* digunakan dalam proses baking untuk melembutkan adonan roti dan dalam fermentasi alcohol. *Saccharomyces* juga berperan dalam pembusukan makanan dengan adanya produksi alcohol dan CO₂.
2. *Pichia membranifaciens*. Sel *P. membranifaciens* berbentuk oval hingga silindris dan membentuk pelikel dalam pembuatan bir dan wine dan brine untuk menyebabkan pembusukan. Beberapa spesies digunakan dalam fermentasi produk oriental.

3. *Rhodotorula glutinosa*. *R. glutinosa* adalah khamir yang membentuk pigmen dan dapat menyebabkan perubahan warna pada makanan, seperti pada daging, ikan, dan sauerkraut.
4. *Torulopsis versatilis*. *T. versatilis* memiliki sel berbentuk oval, menyebabkan pembusukan susu karena kemampuannya memfermentasi laktosa. Khamir ini juga menyebabkan pembusukan jus dan makanan asam.
5. *Candida lipolyticum*. Beberapa khamir ini menyebabkan pembusukan makanan asam tinggi, kadar garam tinggi, dan kadar gula tinggi dan membentuk pilikel pada permukaan cairan. Beberapa khamir menyebabkan ketengikan pada butter dan produk susu.
6. *Zygosaccharomyces bailii*. Khamir ini menyebabkan pembusukan pada makanan asam tinggi, seperti saus, pikel, mustard, mayonnaise, dan salad dressing khususnya salad dressing asam rendah dan yang mengandung garam rendah dan kadar gula rendah.
7. *Kluyveromyces*. Khamir membentuk askospora, bereproduksi melalui buding lateral, dan melalui spora. *K. fragilis*, *K. lactis*, *K. bulgaricus*, *Saccharomyces lactis*, dan *S. fragilis*, *K. marxianus* sangat penting dalam industri susu. *Kluyveromyces spp* menghasilkan beta-galaktosidase dan sebagai starter pada fermentasi gula termasuk laktosa. *K.marxianus* memiliki koenzim Q-6 dan berperan dalam fermentasi koumiss. *K. marxianus* juga digunakan dalam produksi lactase dari whey dan sebagai organisme penghasil sel khamir dari whey. *K. marxianus* juga menyebabkan pembusukan pada keju.

3. Golongan virus.

Golongan virus penting dalam makanan meliputi tiga hal.

Pertama, virus penyebab penyakit enteric dan oleh karena itu jika virus terdapat dalam makanan dapat menyebabkan foodborne diseases, virus Hepatitis-A dan Norwalk sangat berkaitan

dengan outbreak foodborne, virus lain seperti virus Poliovirus, Echovirus dan Coxsackievirus berpotensi menyebabkan foodborne diseases. Pada beberapa negara atau daerah dengan program sanitasi yang buruk, virus dapat mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit.

Kedua, golongan virus bakteri (bacteriophage) digunakan dalam identifikasi keberadaan pathogen misalnya *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, berdasarkan pada sensitivitas sel terhadap bakteriofage pada pengenceran yang sesuai. Bakteriofage digunakan pada transfer gen dalam strain bakteri oleh suatu proses yang disebut transduksi, misalnya pada *E. coli* dan *L. lactis*.

Ketiga, bakteriofage dapat menjadi sangat penting karena kemampuan mengakibatkan kegagalan proses fermentasi. Beberapa BAL yang digunakan sebagai starter culture dalam fermentasi makanan sangat sensitive mudah rusak terhadap bakteriofage yang berbeda. Bakteriofage dapat menginfeksi dan mematikan kultur bakteri dan mengakibatkan kegagalan produk. Diantara BAL, bakteriofage telah berhasil diisolasi dari *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Lactobacillus*. Tidak ada bakteriofage *Pediococcus*.

4. Golongan bakteri.

Beberapa genera dan spesies bakteri yang berperan dalam makanan sebagai berikut.

1. Kelompok Gram negative aerobic

Campylobacter. *Campylobacter coli* dan *C. jejuni* merupakan dua spesies *Campylobacter* sebagai pathogen makanan, berukuran kecil (0,2 x 1 um), mikroaerofilik, helikel, sel yang motil/bergerak ditemukan dalam saluran pencernaan manusia, hewan, dan unggas, termasuk mesofil.

Pseudomonas. *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P. putida* adalah genus *Pseudomonas* penting sebagai pembusuk makanan, mampu memetabolisme karbohidrat, protein, dan lemak dalam makanan. Sel berbentuk lurus atau kurva (0,5 x 0,5 um), aerobic, motil batang pendek/rod, psikrotrof.

Xanthomonas camprestris sebagai genus *Xanthomonas*, memiliki sifat menyerupai *Pseudomonas*, termasuk pathogen tanaman, dan oleh karena itu dapat menyebabkan pembusukan buah dan sayuran. *X. camprestris* digunakan untuk memproduksi gum xanthan sebagai stabilizer pangan.

Acetobacter, memiliki sel berbentuk ellipsoidal rod (0,6 x 4 um), terdapat dalam koloni tunggal maupun rantai pendek, motil dan ada pula yang nonmotil, aerobic, dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Golongan mesofilik yang dapat menyebabkan pengasaman pada minuman beralkohol dan jus buah, serta dimanfaatkan untuk memproduksi vinegar (asam asetat). *Acetobacter* juga membusukan buah, tersebar meluas pada industry dan tempat pembuatan alcohol. Misalnya *Acetobacter aceti*.

Gluconobacter. *G. oxydans* menyebabkan pembusukan material berfereses, berkaitan dengan pembusukan makanan berprotein, nanas, dan pir, memiliki sifat menyerupai sifat *Acetobacter*.

Acinetobacter calcoaceticus, contoh genus *Acinetobacter* yang memiliki sel rod (1 x 2 um), terjadi dalam bentuk pairs berpasangan atau rantai pendek, menunjukkan sifat motil karena adanya fimbriae polar (ada di kedua ujung sel), sangat aerobic, dan tumbuh diantara 20 - 35°C, habitat tanah, air, sewage.

Morexella. *M. lacunata* memiliki sel rod sangat pendek hampir berbentuk coci (1 x 1,5 um), terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan atau rantai pendek, mungkin juga berkapsul. Suhu pertumbuhan optimum 30 - 35°C, Ditemukan pada mucosa hewan dan manusia.

Alcaligenes. Misalnya *A. faecalis*, sel berbentuk rod atau cocobacilari (0,5 x 1 um), motil, ditemukan di tanah, air dan material berfereses, berkaitan dengan pembusukan makanan kaya protein, umumnya mesofilik.

Brucella. Selnya berbentuk cocobacili (0,5 x 1 um), dalam bentuk tunggal, non motil, menyebabkan penyakit pada

hewan meliputi ternak, babi, domba oleh spesies yang berbeda. Juga menyebabkan foodborne pathogen yang menyebabkan penyakit brucellosis. Misalnya *B. abortus* menyebabkan abortus pada sapi.

2. Gram negative fakultatif anaerobic

Citrobacter. *Citrobacter freundii*. *C. freundii* memiliki sel bentuk rod lurus (1 x 4 um), tunggal atau berpasangan, motil, mesofil, habitatnya usus manusia, hewan dan unggas, dan lingkungan. Termasuk dalam golongan coliform yang berfungsi sebagai bakteri indicator sanitasi.

Escherichia. Memiliki bentuk sel rod lurus (1 x 4 um), motil dan non motil, mesofil. Spesies penting *E. coli*, ditemukan di usus manusia, hewan berdarah panas, dan unggas. Beberapa strain non patogenik, tetapi banyak strain yang pathogen pada manusia dan hewan, dan termasuk bakteri penyebab foodborne diseases. Digunakan sebagai indicator sanitasi dalam bentuk coliform dan fecal coliform.

Enterobacter. Memiliki sel berbentuk rod lurus (1 x 2 um), motil, ditemukan dalam usus manusia, hewan dan unggas dan dalam lingkungan. Termasuk dalam kelompok coliform sebagai indicator sanitasi. Spesies penting *Enterobacter aerogenes*.

Edwarsiella. Memiliki sel bentuk rod pendek (1 x 2 um), motil, ditemukan dalam usus hewan berdarah panas, dan hewan dalam air. Dapat bersifat pathogen terhadap manusia tetapi keterkaitannya dengan foodborne diseases belum ada.

Erwinia. Memiliki sel bentuk rod pendek (1 x 2 um), dalam berpasangan atau rantai pendek, motil, fakultatif anaerobic, optimum pertumbuhan 30°C. Beberapa spesies sebagai pathogen tanaman dan termasuk dalam pembusuk produk tanaman. Spesies penting *E. amylovora*.

Klebsiella. Memiliki sel bentuk rod sedang (1 x 4 um), dalam tunggal atau berpasangan, motil, dan capsulated. Ditemukan dalam usus manusia, hewan, dan unggas, dalam tanah, air,

dan biji bijian. Termasuk dalam kelompok coliform sebagai indicator sanitasi, contohnya *Klebsiella pneumoniae*.

Proteus. Sel berbentuk rod lurus kecil (0,5 x 1,5 um), sangat motil, membentuk angsa jika ditumbuhkan pada media agar, beberapa spesies dapat tumbuh pada suhu sangat rendah. Terdapat dalam usus manusia dan hewan dan dalam lingkungan. *Proteus* menyebabkan pembusukan makanan. Contoh *Proteus vulgaris*.

Salmonella. Memiliki sel bentuk rod sedang (1 x 4 um), motil, mesofil, ditemukan dalam usus manusia, hewan, unggas, dan serangga. Terdapat lebih dari 2000 serovar dan tergolong pathogen terhadap manusia dan menyebabkan foodborne diseases. Contoh *S. enteridis*, *S. typhimurium*.

Shigella. Memiliki sel berbentuk rod sedang, non motil, mesofilik, ditemukan dalam usus manusia dan hewan, dan primate. Termasuk dalam golongan penyebab penyakit foodborne diseases. Contoh *Shigella dysenteriae*.

Yersinia. Sel berbentuk rod kecil (0,5 x 1 um), motil dan non motil, dapat tumbuh pada 1°C, terdapat dalam usus hewan. *Yersinia enterocolitica* tergolong dalam foodborne diseases outbreak.

Vibrio. Berbentuk rod curve (0,5 x 1 um), motil, mesofil, ditemukan di air dan lingkungan laut, beberapa spesies memerlukan kadar garam untuk pertumbuhannya. Beberapa spesies pathogen dan menyebabkan penyakit foodborne diseases (*Vibrio cholera*, *Vib. parahaemolyticus*, dan *Vib. vulnificus*). *Vib. alginolyticus* menyebabkan pembusukan makanan.

Serratia. Sel berbentuk rod kecil (0,5 x 1,5 um), motil, koloni berwarna putih, pink atau merah. Beberapa spesies dapat tumbuh suhu refrigerasi, dapat menyebabkan pembusukan makanan. Contoh *Serratia liquefaciens*.

3. Gram positive cocci.

Micrococcus. Sel berbentuk spherical (0,2 – 2 um), dalam berpasangan, tetrad, atau kluster, aerobik, non motil, koloni

berwarna kuning, ditemukan dalam kulit mamalia, dapat menyebabkan pembusukan, mesofil, resisten terhadap panas rendah. Contoh *Micrococcus luteus*.

Streptococcus. Sel berbentuk spheric atau ovoid (1 um), dalam berpasangan atau rantai, non motil, fakultatif anaerob, mesofil. *Streptococcus pyogenes* pathogen dan tergolong penyebab foodborne diseases, berada pada saluran pernafasan manusia sebagai bakteri komensalisme. *Streptococcus thermophilus* digunakan pada fermentasi susu, dapat berada dalam susu segar dan dapat tumbuh pada suhu 50°C.

Enterococcus. Sel berbentuk spheroid (1 um), terdapat dalam berpasangan, atau rantai, non motil, facultative anaerob, beberapa strain dapat bertahan hidup pada suhu pasturisasi, mesofil. Habitat normalnya adalah usus manusia, hewan dan unggas, dan lingkungan. Dapat hidup pada permukaan peralatan dan dapat digunakan sebagai indicator sanitasi. Sangat penting dalam kaitannya dengan pembusuk makanan. Contoh *Enterococcus faecalis*.

Staphylococcus. Sel berbentuk spheric (0,5 – 1 um), terdapat dalam tunggal, berpasangan atau kluster, non motil, mesofil, facultative anaerob, dapat tumbuh dalam kadar garam 10%. *S. aureus* termasuk dalam foodborne diseases. *S. carnosus* digunakan dalam fermentasi sosis. Habitat utama adalah kulit manusia, hewan dan unggas.

Lactococcus. Sel berbentuk ovoid elongated (0,5 – 1 um), terdapat dalam berpasangan atau rantai pendek, non motil, fakultatif anaerob, mesofil tetapi dapat tumbuh pada suhu 10°C, menghasilkan asam laktat, dimanfaatkan untuk memproduksi makanan bioproses, khususnya fermentasi susu. *Lactococcus lactis subsp. Lactis* dan *subsp cremoris*, terdapat dalam susu segar dan pabrik pengolahan susu. Beberapa strain memproduksi bakteriosin yang dapat membunuh Gram positif bakteri dan berpotensi sebagai biopreservatif makanan.

Leuconostoc. Sel berbentuk spheric atau lenticular, terdapat dalam berpasangan atau rantai, non motil, facultative anaerobic, heterolaktik fermentator, mesofilik, tetapi dapat tumbuh pada suhu 3°C atau di bawahnya. Spesies ini digunakan dalam fermentasi makanan. Strain yang termasuk psikrotrofik termasuk penyebab pembusukan makanan dengan membentuk gas pada makanan kemas vakum refrigerasi. Habitat nya industry pengolahan, daging dan susu. *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*, *Leu. lactis*, *Leu. carnosum*. *Leu. mesenteroides subsp dextranicum* penghasil dekstran jika ditumbuhkan pada substrat bergula. Beberapa strain menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif, dan berpotensi sebagai food biopreservatif.

Pediococcus. Sel berbentuk spheric (1 um), membentuk tetrad, kebanyakan dalam bentuk berpasangan, non motil, facultative anaerobic, homolaktik ermentor, mesofilik, tetapi dapat tumbuh pada suhu 50°C, dan survive pada suhu pasturisasi. Beberapa spesies digunakan dalam fermentasi makanan. Beberapa strain menyebabkan pembusukan pada minuman beralkohol. Habitatnya produk makanan. *Pediococcus acidilactici* dan *P. pentasaceus*. Beberapa strain menghasilkan bakteriosin dan dapat melawan bakteri Gram positif dan dapat digunakan dalam pengawetan makanan.

4. Gram positif rod pembentuk endopsora.

Bacillus. Sel berbentuk rod lurus, (0,5 – 1 x 2 – 10 um) dan berbentuk tebal atau tipis, terdapat dalam tunggal atau rantai, motil, non motil, mesofilik, psikrotrofik, aerobic atau fakultatif anaerobic, semua membentuk endopsora yang dapat berbentuk spherical, oval, besar atau kecil setiap sel. Spora sangat resisten terhadap panas. Termasuk dalam spesies penting dalam makanan karena kemampuannya menyebabkan foodborne diseases (*Bacillus cereus*) dan pembusukan makanan, khususnya makanan kaleng (*Bacillus coagulans*, dan *B. stearothermophilus*). *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim yang digunakan dalam pengolahan

makanan. Habitatnya tanah, debu, dan industry pengolahan makanan khususnya industry spices. Beberapa spesies dapat memproduksi enzim ekstraseluler yang menghidrolisa karbohidrat, protein dan lemak.

Clostridium. Sel berbentuk rod bervariasi bentuk dan ukurannya, motil, non motil, anaerobic, mesofilik, psikrotrofik. Membentuk endospora (oval atau spheric), biasanya pada salah satu ujung sel, beberapa spesies tidak mampu berspora. Sporangya resisten terhadap panas. Habitatnya tanah, endapan perairan laut, limbah, tanaman yang melapuk, hewan dan industry makanan. Beberapa spesies pathogen dalam makanan yaitu *Clostridium botulinum*, dan *C. perfringens*. Spesies lain berperan dalam pembusukan makanan yaitu *C. tyrobutyricum*, *C. saccharolyticum*, *C. laramie*. Beberapa spesies digunakan sebagai penghasil enzim untuk menghidrolisa karbohidrat dan protein dalam pengolahan makanan.

5. Gram positif rod tidak berspora.

Lactobacillus. Sel berbentuk rod, tunggal, rantai pendek atau panjang, fakultatif anaerobic, nonmotil, mesofilik tetapi ada juga yang psikrotrofik, dapat berupa homolaktik atau heterolaktik fermentor. Habitat industry pengolahan susu, daging, dan tinja. Beberapa spesies digunakan dalam pengolahan makanan seperti *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Lactobacillus helvetica*, *Lactobacillus plantarum*, dan beberapa spesies sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Lac. reuteri*, *Lac. casei subsp casei*. Beberapa spesies dapat tumbuh pada suhu rendah dalam makanan yang disimpan dalam refrigerasi (*Lac. sake*, *Lac. curvatus*). Beberapa strain memproduksi bakteriosin yang dapat berperan dalam pengawetan makanan.

Listeria. Sel berbentuk rod pendek (0,5 x 1 um), dalam tunggal atau rantai pendek, motil, facultative anaerob, dapat tumbuh pada suhu 1°C. Sel mati oleh pasturisasi. Contoh *Listeria monocytogenes* sangat penting dalam makanan karena termasuk dalam foodborne diseases.

6. Gram positif rod irregular tidak berspora.

Corynebacterium. Sel berbentuk rod curve, facultative anaerobic, non motil, mesofilik, habitatnya lingkungan, industry pengolahan makanan dan hewan. Beberapa spesies menyebabkan pembusukan. Contoh *Corynebacterium glutamicum* digunakan untuk memproduksi asam glutamate.

Propionibacterium. Sel berbentuk pleomorfik rod (0,5 x 2 um), terdapat dalam tunggal atau rantai pendek, non motil, anaerobic, mesofilik. Dairy propionibacteria digunakan dalam fermentasi makanan yaitu *Propionibacterium freundenreichii* dalam keju swiss., menghasilkan prolin dan asam propionate. Habitatnya susu mentah, keju swiss dan silage.

Bifidobacterium. Sel berbentuk rod dalam berbagai bentuk, tunggal atau rantai membentuk huruf V atau bintang, non motil, mesofilik, anaerobic. Dapat memetabolisme karbohidrat menjadi asam laktat dan asetat. Habitat dalam usus kolon manusia, hewan, dan unggas. Beberapa spesies berfungsi sebagai probiotik (*Bifidobacterium bifidum*, *Bif. infantis*, *Bif. adolescentis*)

7. Bakteri penting lain dalam makanan.

Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling banyak terdapat dalam makanan. Hal ini karena bakteri memiliki laju kecepatan pertumbuhan yang tinggi, kemampuannya dalam mengkonsumsi nutrisi, dan kemampuannya untuk tumbuh pada kisaran suhu yang luas, aerobiosis, pH, aw, dan juga mampu survive dalam kondisi yang kurang menguntungkan seperti ketahanan spora pada suhu tinggi. Kelompok bakteri penting dalam makanan sebagai berikut.

1. Bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memproduksi asam laktat dalam jumlah besar dari karbohidrat, meliputi genus *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, dan *Streptococcus thermophilus*.
2. Bakteri asam asetat. Bakteri yang memproduksi asam asetat seperti *Acetobacter aceti*.

3. Bakteri asam propionate. Bakteri yang memproduksi asam propionate dan digunakan dalam fermentasi susu. Contoh *Propionibacterium freundenreichii*.
4. Bakteri asam butirat. Bakteri yang memproduksi asam butirat dalam jumlah besar. Seperti *Clostridium spp*, *Clostridium butyricum*.
5. Bakteri proteolitik. Bakteri yang mampu menghidrolisa protein karena mempunyai enzim ekstraseluler proteinase. Misalnya genus *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Alteromonas*, *Flavobacterium* dan *Alcaligenes*.
6. Bakteri lipolitik. Bakteri yang mampu menghidrolisa trigliserida karena memiliki enzim ekstraseluler lipase. Contoh *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*.
7. Bakteri saccharolitik. Bakteri yang mampu menghidrolisa karbohidrat kompleks. Contoh *Bacillus*, *Clostridium*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*.
8. Bakteri termofilik. Bakteri yang mampu tumbuh pada suhu 50°C ke atas. Contoh *Bacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*.
9. Bakteri psikrotrofik. Bakteri yang mampu tumbuh pada suhu refrigerasi (<5°C). Contoh *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Brochothrix*, *Listeria*, *Yersinia*, dan *Aeromonas*.
10. Bakteri termotoleran. Bakteri yang mampu survive pada suhu perlakuan pasturisasi. Yang termasuk golongan ini adalah *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bacillus* (spora), dan *Clostridium* (spora).
11. Bakteri halotoleran. Bakteri yang survive pada konsentrasi garam >10%. Contoh *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Vibrio*, dan *Corynebacterium*.
12. Bakteri asidurik. Bakteri yang survive pada pH rendah (<4.0). Contoh *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, dan *Streptococcus*.

13. Bakteri osmofilik. Bakteri yang dapat tumbuh pada lingkungan dengan tekanan osmose tinggi, meliputi *Staphylococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*.
14. Bakteri produksi gas. Bakteri yang menghasilkan gas CO₂, H₂, dan H₂S selama metabolisme nutrisi. Contoh *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Clostridium*, dan *Desulfotomaculum*.
15. Bakteri produksi slime/lendir. Bakteri yang memproduksi lendir karena adanya sintesis polisakarida, meliputi *Xanthomonas*, *Leuconostoc*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Lactococcus*, dan *Lactobacillus*.
16. Pembentuk spora. Bakteri yang mampu memproduksi spora, meliputi *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Desulfotomaculum spp.* Golongan penghasil spora dikelompokkan lagi menjadi kelompok pembentuk spora aerobik, dan pembentuk spora anaerobik, pembentuk spora flat sour, pembentuk spora termofilik, dan pembentuk spora penghasil sulfida (sulfide-producing sporeforming).
17. Aerobic. Bakteri yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya dan bermultiplikasi, yang termasuk golongan ini adalah *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Flavobacterium*.
18. Anaerobic. Bakteri yang tidak dapat tumbuh dengan adanya oksigen. Contoh *Clostridium*.
19. Fakultatif anaerobik. Bakteri yang dapat tumbuh baik pada kondisi adanya oksigen maupun tidak ada oksigen. Yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Bacillus*, *Serratia*, dan coliform.
20. Coliform. Bakteri yang tergolong meliputi *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, dan *Klebsiella*, dan digunakan sebagai indikator sanitasi.
21. Fecal coliform. Bakteri yang meliputi *E. coli*, sebagai indeks sanitasi.

22. Pathogen enteric. Bakteri yang meliputi *Salmonella*, *Sigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia*, *Vbrio*, *Listeria*, *Hepatitis A* yang dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran pencernaan.

3. RINGKASAN

Mikroba penting yang terdapat dalam makanan tertentu sebagai habitatnya sehingga dapat mengadakan pertumbuhan karena kondisinya yang sesuai untuk pertumbuhannya, dan selama pertumbuhan mikroba tersebut menghasilkan produk yang dapat mempengaruhi sifat dari bahan makanan. Mikroba penting dalam makanan digolongkan dalam kapang, khamir, bakteri dan virus. Golongan kapang meliputi *Aspergillus*, *Alternaria*, *Geotricum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aureobasidium*. Golongan khamir meliputi *Saccharomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Candida*, *Zygosacchomyces*, *Kluyveromyces*. Golongan virus meliputi Virus *Hepatitis-A* dan *Norwalk* sangat berkaitan dengan outbreak foodborne, virus yang lain seperti virus *Poiovirus*, *Echovirus* dan *Coxsackievirus*. Golongan virus bakteri (bacteriophage) digunakan dalam identifikasi keberadaan pathogen misalnya *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, berdasarkan pada sensitivitas sel terhadap bakteriofage pada pengenceran yang sesuai. Golongan bakteri meliputi Gram negative aerobik, Gram negative fakultatif anaerobik, Gram positif coci, Gram positif rod pembentuk endospora, Gram positif rod tidak berspora, Gram positif rod irregular tidak berspora, bakteri penting lain dalam makanan.

LATIHAN

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat.

1. Kapang dapat tumbuh pada kondisi sebagai berikut kecuali:
 - a. kondisi dimana bakteri tidak bisa tumbuh.
 - b. aw dan pH rendah.
 - c. kondisi bertekan tinggi.
 - d. media berkadar garam tinggi.

2. Golongan khamir yang berpotensi sebagai pembusuk makanan adalah sebagai berikut kecuali :
 - a. *Saccharomyces cerevisiae*.
 - b. *Pichia membranifaciens*.
 - c. *Rhodotorula glutinosa*.
 - d. *Torulopsis versatilis*.

3. Golongan virus sangat penting dalam keamanan pangan karena peran nya sebagai berikut kecuali:
 - a. menyebabkan foodborne diseases mis *Hepatitis-A dan Norwalk*.
 - b. golongan bakteriofage dapat digunakan dalam identifikasi bakteri mis *Salmonella spp*.
 - c. bakteriofage juga dapat menyebabkan gagalnya fermentasi.
 - d. BAL tidak mudah rusak oleh bakteriofage.

4. Golongan bakteri fakultatif anaerobic yang mempunyai peran sebagai indicator sanitasi yaitu:

a. <i>Cotrobacter</i> .	b. <i>Escherichia</i>
c. <i>Erwinia</i> .	d. <i>Edwarsiella</i> .

5. Golongan bakteri Gram negative aerobic yang dimanfaatkan sebagai starter fermentasi produk vinegar yaitu:

a. <i>Pseudomonas</i> .	b. <i>Acetobacter</i> .
c. <i>Glukonobacter</i> .	d. <i>Acinetobacter</i> .

6. Golongan bakteri positif rod irregular tidak berspora yang digunakan dalam fermentasi produk keju yaitu:
- a. *Corynebacterium*.
 - b. *Propionibacterium*.
 - c. *Bifidobacterium*.
 - d. *Listeria*.
7. Golongan bakteri positif rod pembentuk endospore yang resisten terhadap panas yaitu:
- a. *Bacillus*.
 - b. *Clostridium*.
 - c. *Corynebacterium*.
 - d. *Staphylococcus*.
8. Bakteri penghasil asam butirat yaitu:
- a. *Clostridium butyricum*.
 - b. *Bacillus cereus*.
 - c. *Lactobacillus*.
 - d. *Escherichia*.
9. Bakteri proteolitik antara lain di bawah ini kecuali:
- a. *Micrococcus*.
 - b. *Staphylococcus*.
 - c. *Bacillus*.
 - d. *Saccharomyces*.
10. Bakteri sakarolitik antara lain di bawah ini kecuali:
- a. *Bacillus*.
 - b. *Clostridium*.
 - c. *Aeromonas*.
 - d. *Alcaligenes*.

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay et al., 2005. *Modern Food Microbiology*.

Bibek ray, 2001, *Fundamental Food Microbiology*.

M.E. Kustyawati, 2017. *Signifikansi Khamir Dalam Pangan*

Kunci Jawaban.

- | | |
|-------|-------|
| 1. d. | 6. b |
| 2. a | 7. a |
| 3. d | 8. a |
| 4. b | 9. D |
| 5. b | 10. d |

FAKTOR PERTUMBUHAN MIKROBA

Capaian pembelajaran: mampu menjelaskan signifikansi fungsi bakteri, kapang dan khamiryang terdapatnya secara alami dalam makanan tetentu.

1. PENDAHULUAN

Faktor-faktor yang dibahas dalam bagian ini merupakan daftar faktor intrinsik, ekstrinsik, yang perlu dipertimbangkan ketika menentukan apakah suatu makanan atau kategori makanan memerlukan kontrol terhadap waktu/suhu selama penyimpanan, distribusi, penjualan dan penanganan di ritel dan di layanan makanan (pusat layanan makanan/food court) untuk tujuan memastikan perlindungan konsumen. Banyak faktor perlu dilakukan evaluasi untuk setiap makanan tertentu ketika akan membuat keputusan apakah makanan tersebut perlu dilakukan kontrol waktu / suhu untuk menjaga keamanannya. Faktor tersebut dapat dibagi menjadi faktor-faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik adalah faktor-faktor yang merupakan karakteristik dari makanan itu sendiri; faktor ekstrinsik adalah faktor yang merujuk pada lingkungan di sekitar makanan. Perlunya dilakukan kontrol waktu/suhu berkaitan dengan kemungkinan terjadinya potensi kontaminasi oleh mikroorganisme patogen termasuk pengaruh

pemrosesan, dan potensi untuk pertumbuhan selanjutnya dan/atau produksi toksin. Pada Bab ini diulas parameter parameter yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu meliputi parameter intrinsic, ekstrinsik, microflora kompetitif, efek penghambatan pertumbuhan, jenis kemasan, kondisi penyimpanan, tahapan pengolahan pangan, dan faktor faktor lain.

2. PENYAJIAN

1. Faktor instrinsik dan ekstrinsik.

Parameter instrinsik

Persyaratan tumbuh suatu mikroorganisme dikelompokkan dalam dua faktor yaitu faktor intrinsic, dan faktor ekstrinsik. Ada pula yang menambahkan faktor implicit disamping ke dua faktor tumbuh tersebut. Faktor instrinsik yaitu parameter faktor yang ada terdapat di dalam makanan itu sendiri atau dalam substrat itu sendiri yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Faktor instrinsik ada 6 parameter yaitu meliputi kandungan nutrisi, pH, potensi oksidasi-reduksi, a_w , inhibitor alami dan struktur fisik atau struktur biologi. Faktor ekstrinsik yaitu parameter yang dapat dimanipulasi, dibuat atau dikondisikan dan tidak ada terdapat di dalam makanan atau substrat itu sendiri. Faktor ekstrinsik meliputi suhu, kelembaban udara (Rh), dan atmosfer penyimpanan. Pertumbuhan mikroba (μ) sangat berkaitan dengan kurva pertumbuhan yang terdiri atas fase lag, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Dalam kaitannya dengan keamanan pangan maka penundaan atau penghambatan fase log sangat diutamakan. Waktu generasi (t_g = generation time) yaitu waktu yang diperlukan oleh satu sel untuk menjadi dua sel, dua sel menjadi empat sel, empat sel menjadi delapan sel, dan seterusnya. Parameter instrinsik yaitu semua parameter yang dimiliki atau berada dalam makanan itu sendiri. Parameter ini meliputi pH, kandungan air, kandungan nutrisi, adanya agensia antimikrobia, struktur biologi pangan, dan potensial oksidasi reduksi.

Nutrisi

Mikroorganisme membutuhkan nutrisi dasar tertentu untuk pertumbuhan dan pemeliharaan fungsi metabolismenya. Jumlah dan jenis nutrisi yang dibutuhkan beragam tergantung pada mikroorganisme. Nutrisi ini termasuk air, sumber energi, nitrogen, vitamin, dan mineral. Semua mikroorganisme memerlukan sumber energi untuk pertumbuhannya yaitu sumber karbon, sumber nitrogen, dan berbagai mineral atau elemen. Beragam jumlah nutrisi ini terdapat dalam makanan, misalnya daging mengandung banyak protein, lipid, mineral, dan vitamin. Sebagian besar makanan yang mengandung jaringan otot memiliki kadar karbohidrat yang rendah sedangkan makanan nabati memiliki berbagai jenis karbohidrat konsentrasi tinggi dan berbagai tingkat protein, mineral, dan vitamin. Makanan seperti produk susu dan susu serta telur kaya akan nutrisi. Kebanyakan mikroorganisme akan memetabolisme gula sederhana seperti glukosa, sedang mikroorganisme yang lain dapat memetabolisme karbohidrat yang lebih kompleks, seperti pati atau selulosa yang ditemukan dalam pangan nabati, atau glikogen yang ditemukan dalam makanan yang mengandung jaringan otot. Beberapa mikroorganisme dapat menggunakan lemak sebagai sumber energi. Asam amino berfungsi sebagai sumber nitrogen dan energi dan digunakan oleh sebagian besar mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme dapat memetabolisme peptida dan protein kompleks. Sumber nitrogen lain, misalnya urea, amonia, kreatinin, dan metilamin. Mineral dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba dalam jumlah kecil, misalnya fosfor, besi, magnesium, belerang, mangan, kalsium, dan kalium, sehingga berbagai makanan dapat berfungsi sebagai sumber mineral yang baik. Secara umum, bakteri Gram + lebih susah dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya karena tidak dapat mensintesis nutrisi tertentu yang diperlukan untuk pertumbuhan. Sebagai contoh, Gram + patogen bawaan makanan *S. aureus* membutuhkan asam amino, tiamin, dan asam nikotinat untuk pertumbuhan. Sehingga buah dan sayuran yang kekurangan vitamin B tidak efektif mendukung pertumbuhan mikroorganisme Gram +, sedangkan bakteri Gram (-) umumnya dapat lebih mudah memperoleh kebutuhan nutrisi dasar mereka

dari karbohidrat, protein, lipid, mineral, dan vitamin yang ada yang ditemukan dalam berbagai makanan. Contoh patogen dengan kebutuhan nutrisi spesifik adalah *Salmonella Enteritidis*. Pertumbuhan *Salmonella enteritidis* mungkin dibatasi oleh ketersediaan zat besi. Sebagai contoh, bagian albumen dari telur, (kebalikan dari kuning telur), termasuk agen antimikroba dan mengandung zat besi terbatas yang mencegah pertumbuhan *Salmonella enteritidis* ke tingkat yang tinggi. Penambahan zat besi pada inokulum *Salmonella enteritidis* dalam albumen telur menghasilkan pertumbuhan patogen ke tingkat yang lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat yang dicapai ketika inokulum kontrol (tanpa zat besi) digunakan. Mikroorganisme yang biasanya mendominasi makanan adalah yang paling mudah memanfaatkan nutrisi yang ada. Umumnya, karbohidrat sederhana dan asam amino digunakan terlebih dahulu, diikuti oleh bentuk nutrisi yang lebih kompleks. Kompleksitas makanan pada umumnya sedemikian rupa sehingga beberapa mikroorganisme dapat tumbuh dalam makanan pada saat bersamaan. Tingkat pertumbuhan dibatasi oleh ketersediaan nutrisi esensial/penting. Kelimpahan nutrisi di sebagian besar makanan dapat mendukung pertumbuhan berbagai patogen bawaan makanan. Dengan demikian, sangat sulit dan tidak praktis untuk memprediksi pertumbuhan patogen atau produksi toksin berdasarkan komposisi nutrisi makanan.

Beberapa mikroba memerlukan kofaktor, vitamin, dan nutrisi tambahan. Beberapa mikroba dapat tumbuh pada senyawa yang sederhana, beberapa mikroba memerlukan media yang lengkap dan kompleks. Golongan autotrof yaitu mikroorganisme yang mampu memperoleh sumber karbon dari CO₂ atau karbonat. Heterotrof yaitu mikroorganisme yang memerlukan senyawa organik sebagai sumber karbon bagi pertumbuhannya.

pH

Telah diketahui bahwa kelompok mikroorganisme memiliki pH optimum, minimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya dalam makanan. Seperti halnya faktor-faktor lain, pH biasanya berinteraksi dengan parameter lain dalam makanan untuk menghambat pertumbuhan. PH dapat berinteraksi dengan faktor-

faktor seperti aw, garam, suhu, potensi redoks, dan pengawet untuk menghambat pertumbuhan patogen dan organisme lain. PH makanan juga secara signifikan berdampak pada letalitas perlakuan panas pada makanan, dimana diperlukan panas yang lebih rendah untuk menonaktifkan mikroba karena pH menurun. Tabel 2.1 mencantumkan kisaran pH beberapa makanan umum. PH adalah fungsi konsentrasi ion hidrogen dalam makanan:

$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

Istilah lain yang relevan dengan pH makanan adalah pKa. pKa menggambarkan keadaan disosiasi sebuah asam. Pada kesetimbangan, pKa adalah pH di mana konsentrasi asam terdisosiasi dan tidak terdisosiasi adalah sama. Asam kuat memiliki pKa yang sangat rendah, artinya hampir seluruhnya terdisosiasi dalam larutan (ICMSF 1980). Misalnya, pH (pada 25°C [77 ° F] larutan HCl 0,1 M adalah 1,08 dibandingkan dengan pH larutan asam asetat 0,1 M, yaitu 2,6. Karakteristik ini sangat penting ketika menggunakan keasaman sebagai metode pengawetan untuk makanan. Asam organik lebih efektif sebagai pengawet dalam keadaan tidak terdisosiasi. Menurunkan pH makanan meningkatkan efektivitas asam organik sebagai pengawet. Jenis asam organik yang digunakan dapat secara dramatis mempengaruhi kualitas mikrobiologis dan keamanan makanan. Karakteristik penting lain dari makanan yang perlu dipertimbangkan saat menggunakan keasaman sebagai mekanisme kontrol adalah kapasitas bufferingnya. Kapasitas buffering makanan adalah kemampuannya untuk menahan perubahan pH. Makanan dengan kapasitas buffer yang rendah akan mengubah pH dengan cepat sebagai respons terhadap senyawa asam atau alkali yang dihasilkan oleh mikroorganisme saat mereka tumbuh. Daging, secara umum, lebih tangguh daripada sayuran berdasarkan berbagai protein yang terkandung dalam daging.

Keasaman titratable (TA) adalah indikator yang lebih baik daripada nilai pH, untuk stabilitas mikrobiologis makanan tertentu, seperti dressing salad. Tingkat keasaman yang dapat dititrasi adalah ukuran kuantitas alkali standar (biasanya 0,1 M NaOH) yang diperlukan untuk menetralkan larutan asam.

TA mengukur jumlah ion hidrogen yang dilepaskan dari asam yang tidak terdisosiasi selama titrasi. TA (keasaman yang dapat dititrasi) adalah parameter yang sangat berguna untuk makanan tertangga (buffered foods) atau makanan yang sangat asam. Asam lemah (seperti asam organik) biasanya tidak terdisosiasi dan, oleh karena itu, tidak secara langsung berkontribusi terhadap pH. Keasaman yang dapat dititrasi menghasilkan ukuran konsentrasi asam total, sedangkan pH tidak, khususnya untuk jenis makanan tersebut. Secara umum, patogen tidak tumbuh, atau tumbuh sangat lambat, pada tingkat pH di bawah 4,6; tapi ada pengecualian. Table 2.2 dan Gambar 2.1 menyajikan kisaran pH pertumbuhan mikroba penyakit bawaan makanan.

Banyak patogen dapat bertahan hidup dalam makanan pada tingkat pH di bawah minimum pertumbuhannya. Telah dilaporkan bahwa *C. botulinum* mampu menghasilkan toksin pada kondisi pH serendah 4,2, tetapi percobaan ini dilakukan pada konsentrasi inokulum yang tinggi (10^3 - 10^4 CFU/g hingga 10^6 CFU/g), dalam medium pepton kedelai, dan dengan kehadiran *Bacillus spp.*

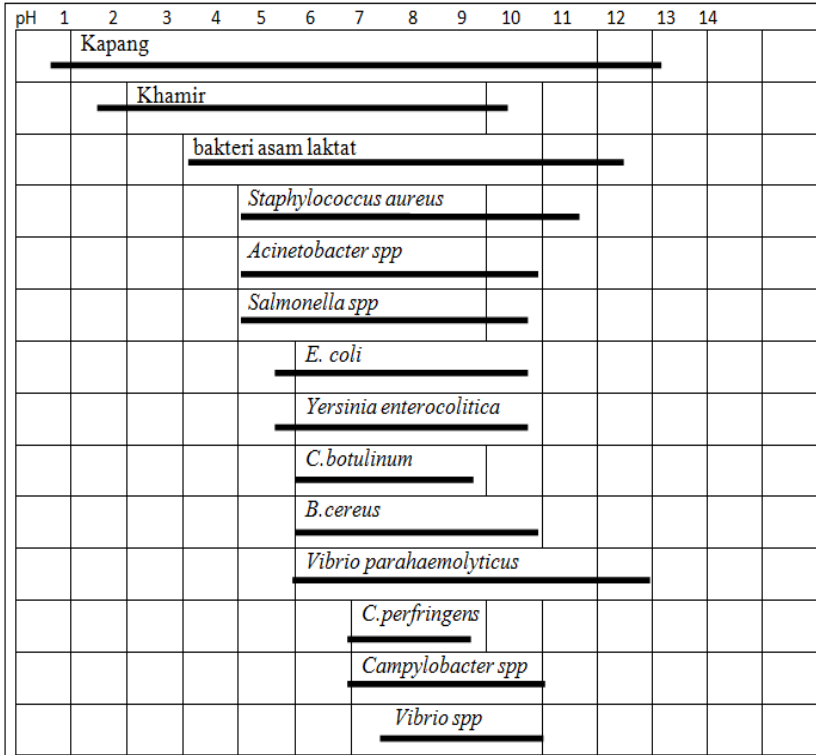
Tabel 2.1. Kisaran nilai pH beberapa produk makanan.

Produk makanan	Kisaran pH	Produk makanan	Kisaran pH
Produk susu:		Daging dan unggas:	
Susu	6,3-6,5	Daging giling	5,1-6,2
Kream susu	6,5	Daging kambing	6,0
Keju	4,9-5,9	Ayam	6,2-6,4
Yogurt	3,8-4,2		
Ikan dan hewan bercangkang:		Buah/sayuran:	
Ikan	6,6-6,8	Apel	2,9-3,3
Kepiting	7,0	Pisang	4,5-4,7
Oyster	4,8-6,3	Buah figs	4,6
Ikan tuna	5,2-6,1	Melon	6,3-6,7
Udang	6,8-7,0	Jeruk	3,6-4,3
Salmon	6,8-7,0	Semangka	5,2-5,6
Ikan putih	5,5	Kacangan	4,6-6,5
		Brokoli	6,5
		Kobis	5,4-6,0
		Kembang kol	5,6
		Terong	4,5
		Kentang	5,3-5,6
		Tomat	4,2-4,3
		Labu kuning	4,8-5,2

Sumber: Jay et al., 2005.

Tabel 2.2. Kisaran nilai pH pada mikroba.

Golongan mikroba	Kisaran pH
Bakteri umumnya	4,4 - 9,0
<i>Thiobacillus</i>	1,0 - 9,8
Kapang	1,5 - 11,0
Khamir	1,5 - 8,5



Gambar 2.1. Kisaran nilai pH untuk pertumbuhan mikroba penyebab penyakit bawaan makanan.

Perlu juga diketahui bahwa perubahan pH dapat mengubah makanan menjadi makanan yang dapat mendukung pertumbuhan patogen. Sebagai contoh, beberapa wabah botulisme telah ditelusuri pada makanan di mana pH meningkat karena adanya pertumbuhan kapang. Hal ini merupakan pertimbangan penting ketika menentukan umur simpan formulasi makanan. Berdasarkan tinjauan komprehensif literatur, disimpulkan bahwa pH 4,6 sesuai untuk mengendalikan patogen pembentuk spora (spore-forming pathogens). Di antara patogen vegetatif, *Salmonella spp.* diketahui tumbuh pada nilai pH terendah; namun, batas pH sangat dipengaruhi oleh asidulan yang digunakan. Sebagai contoh, ketika media cair ekstrak tryptone-yeast-glukosa diinokulasi dengan 10^4 CFU/ml salmonella, nilai pH minimum untuk pertumbuhan berkisar

antara, 4,05 dengan asam klorida dan asam sitrat, hingga pH 5,5 dengan asam propionat atau asam asetat.

Selain itu, konsentrasi inokulum sangat tinggi ($10^2 - 10^6$ CFU/ml) untuk salmonella dalam sistem pangan. Para peneliti ini juga mencatat bahwa hasil ini tidak dapat diekstrapolasi langsung ke makanan karena percobaan dijalankan di media laboratorium dalam suhu dan kondisi ideal dan tanpa kehadiran mikroorganisme kompetitif. Demikian pula dilaporkan bahwa enam dari 13 strain *Salmonella spp.* Dengan 12 serovar dapat tumbuh pada pH 3,8 pada 30°C (86°F) dalam 1-3 hari, dan pada 20°C (68°F) dalam 3-5 hari, ketika menggunakan HCl sebagai asidulan. Laporan lain, bahwa asam tertentu pada pH 4,5 menonaktifkan salmonella. Oleh karena itu disimpulkan bahwa menggunakan rujukan pH minimum 4.0 untuk *Salmonella spp.* tidak dapat dibuktikan secara ilmiah untuk makanan yang memenuhi persyaratan Keamanan Makanan. Berdasarkan tinjauan komprehensif dari data literatur, dapat juga menyimpulkan bahwa adalah valid untuk menggunakan pH minimum 4,2 untuk mengontrol *Salmonella spp.* dan patogen vegetatif lainnya. Seperti halnya sifat intrinsik lainnya, ketika menganalisis makanan multikomponen, pH harus diukur tidak hanya untuk setiap komponen makanan tetapi juga untuk area antarmuka (interface) antara komponen komponen, dan untuk setiap lingkungan mikropotensial. Sebagian besar bakteri tumbuh dengan baik pada pH 7,0 (6,6 hingga 7,5). Bacteria tidak dapat tumbuh pada kondisi asam, dan hanya khamir dan kapang yang bisa tumbuh pada kondisi asam. pH netral makanan adalah 4,5. Semua jenis bahan pangan atau makanan di atas pH 5,4 digolongkan sebagai makanan basa, sedang jenis bahan pangan di bawah 4,5 disenut golongan makanan asam. Di bawa ini jenis jenis makanan dalam kisaran pH tertentu.

	5,4 – 7	<i>daging, daging ayam, udang (sea food)</i>
4,5	4,6 – 5,3	<i>sayur mayur, kacang – kacangan</i>
	3,6 – 4,4	<i>tomat, kacang kacangan</i>
	2,4 – 3,5	<i>buah – buah buah an jeruk, nanas.</i>

pH merupakan hasil disosiasi atom hydrogen, namun tidak semua senyawa dalam makanan yang mengandung atom H mengalami disosiasi. Atom H⁺ dari asam lemah mengalami disosiasi sehingga menyumbangkan H⁺ ke dalam system atau substrat. Daging merupakan makanan yang tahan terhadap perubahan pH karena mempunyai aktivitas buffer (buffering capacity) karena kandungan komponen senyawa di dalam daging, misalnya protein.

A_w (water activity) atau aktivitas air.

Mikroorganisme membutuhkan air dalam bentuk yang tersedia untuk tumbuh dalam produk makanan. Mengendalikan kadar air dalam makanan adalah salah satu teknik pengawetan makanan tertua. Ahli mikrobiologi makanan menggambarkan kebutuhan air mikroorganisme sebagai aktivitas air (a_w) makanan atau lingkungan. Aktivitas air didefinisikan sebagai rasio tekanan uap air dari substrat makanan dengan tekanan uap air murni pada suhu yang sama:

$$a_w = p/p_o$$

Di mana, p = tekanan uap larutan dan p_o = tekanan uap pelarut (biasanya air).

A_w air murni adalah 1,00 dan a_w dari makanan yang benar-benar dehidrasi adalah 0,00. A_w makanan pada skala dari 0,00 - 1,00 berkaitan dengan kesetimbangan kelembaban relatif (relative humidity Rh) di lingkungan makanan tersebut pada skala 0 - 100%. Dengan demikian, % Equilibrium Relative Humidity (ERH) = a_w x 100. A_w dari makanan menggambarkan sejauh mana air "terikat" dalam makanan, ketersediaannya untuk berpartisipasi dalam reaksi kimia / biokimia, dan ketersediaannya untuk memfasilitasi pertumbuhan mikroorganisme.

Sebagian besar makanan segar, seperti daging segar, sayuran, dan buah-buahan, memiliki nilai a_w mendekati tingkat pertumbuhan optimal mikroorganisme pada umumnya (0,97 - 0,99). Tabel 2.3 menunjukkan perkiraan a_w level dari beberapa kategori makanan pada umumnya. A_w dapat dimanipulasi dalam makanan dengan sejumlah cara, termasuk penambahan zat terlarut seperti garam atau gula, penghilangan air secara fisik melalui pengeringan atau

pembakaran, atau pengikatan air ke berbagai komponen makromolekul dalam makanan. Berat untuk berat, komponen makanan ini akan berkurang nilai a_w nya dengan urutan sebagai berikut: senyawa ionik> gula, alkohol polihidrik, asam amino dan senyawa berat molekul rendah lainnya> senyawa berat molekul tinggi seperti selulosa, protein atau pati.

Mikroorganisme merespons secara berbeda terhadap a_w tergantung pada sejumlah faktor. Pertumbuhan mikroba, dan, dalam beberapa kasus, produksi metabolit mikroba, sangat sensitif terhadap perubahan a_w . Mikroorganisme umumnya memiliki nilai a_w optimal dan minimum untuk pertumbuhan tergantung pada faktor pertumbuhan lain di lingkungan mereka. Salah satu indikator respon mikroba adalah klasifikasi taksonomi mikroba. Misalnya, bakteri Gram (-) umumnya lebih sensitif terhadap a_w rendah daripada bakteri Gram (+). Tabel 2.4 mencantumkan perkiraan nilai a_w minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme tertentu yang relevan dengan makanan. Perlu dicatat bahwa banyak bakteri patogen dapat dikendalikan dengan baik pada a_w di atas 0,86, dan hanya *S. aureus* yang dapat tumbuh dan menghasilkan toksin di bawah a_w 0,90.

Table 2.3. Nilai a_w beberapa produk makanan

Produk makanan	a_w	Produk makanan	a_w
Produk asal hewani		Produk asal nabati	
Daging, unggas, ikan.	0,99-1,00	Buah dan sayuran segar	0,97-1,00
Telur	0,97	Roti	0,96
Daging kering	0,87-0,95	Cake	0,90-0,94
Madu	0,75	Jam	0,75-0,80
Susu bubuk	0,20	Jus buah konsentrat	0,79-0,84
Keju	0,95-1,00	Tepung	0,67-0,87
		Gula	0,19

Sumber Jay et al., 2005

Mikroorganisme merespons secara berbeda terhadap a_w tergantung pada sejumlah faktor. Pertumbuhan mikroba, dan, dalam beberapa kasus, produksi metabolit mikroba, sangat sensitif terhadap perubahan a_w . Mikroorganisme umumnya memiliki nilai a_w optimal dan minimum untuk pertumbuhan tergantung pada faktor

pertumbuhan lain di lingkungan mereka. Salah satu indikator respon mikroba adalah klasifikasi taksonomi mikroba. Misalnya, bakteri Gram (-) umumnya lebih sensitif terhadap a_w rendah daripada bakteri Gram (+). Tabel 2.4 mencantumkan perkiraan nilai a_w minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme tertentu yang relevan dengan makanan. Perlu dicatat bahwa banyak bakteri patogen dapat dikendalikan dengan baik pada a_w di atas 0,86, dan hanya *S. aureus* yang dapat tumbuh dan menghasilkan toksin di bawah a_w 0,90.

Tabel.2.4. Nilai A_w minimum untuk pertumbuhan mikroba penting dalam makanan.

Mikroorganisme	a_w	Mikroorganisme	a_w
Golongan			
Bakteria pembusuk	0,9	Bakteri halofilik	0,75
Khamir pembusuk	0,88	Kapang xerofilik	0,61
Kapang pembusuk	0,80	Khamir osmofilik	0,60
Mikroba tertentu			
<i>C.botulinum</i>	0,97	<i>Candida scotii</i>	0,92
<i>Pseudomonas spp</i>	0,97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0,91
<i>Acinetobacter spp</i>	0,96	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,83 -
<i>E. coli</i>	0,96	(pertumbuhan)	0,99
<i>Bacillus subtilis</i>	0,95	<i>Alternaria citri</i>	0,84
<i>Candida utilis</i>	0,94	<i>Penicilium patulum</i>	0,81
<i>Vibrio</i>	0,94	<i>Aspergillus glaucus</i>	0,70
<i>parahaemolyticus</i>	0,93	<i>Saccharomyces rouxii</i>	0,62
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0,93	<i>Monascus bisporus</i>	0,61
<i>Mucor spinosus</i>	0,94	<i>Botrytis cinerea</i>	0,93
<i>Salmonella spp</i>	0,93	<i>Shigella spp</i>	0,97
<i>Bacillus cereus</i>	0,96	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Vibrio vulnificus</i>		<i>S. aureus</i> toxin	0,88 - 0,99

Sumber Jay et al., 2005.

Harus ditekankan bahwa hal ini adalah nilai perkiraan karena zat terlarut dapat bervariasi dalam kemampuannya untuk menghambat mikroorganisme pada nilai a_w yang sama. Untuk sebagai contoh digambarkan, batas bawah a_w untuk pertumbuhan *Clostridium botulinum* tipe A adalah 0,94 dengan NaCl sebagai zat

terlarut, versus $a_w 0,92$ dengan gliserol sebagai zat terlarut. Ketika memformulasikan makanan menggunakan a_w sebagai mekanisme kontrol utama untuk patogen, maka penting dilakukan pengujian mikrobiologis untuk memverifikasi efektivitas menurunnya a_w ketika a_w target (makanan) mendekati batas pertumbuhan untuk organisme yang menjadi perhatian. Karena batas a_w bervariasi dengan perbedaan zat terlarut atau humektan, pengukuran/analisis lain mungkin memberikan hasil yang lebih tepat untuk memonitoring a_w untuk produk tertentu. Sebagai contoh, faktor-faktor selain a_w diketahui dapat mengendalikan karakteristik antibotulinal pada produk keju olahan yang dipasteurisasi. Juga, a_w dapat digunakan dalam kombinasi dengan faktor-faktor lain untuk mengendalikan patogen pada produk makanan tertentu. Perlu diperhatikan ketika menganalisis makanan multi komponen, karena pengukuran a_w yang efektif mungkin tidak mencerminkan nilai aktual dalam lingkungan mikro atau dalam antarmuka (interface) di antara komponen yang berbeda. Dalam kasus ini, a_w harus diukur pada area antarmuka (interface) makanan, serta di lingkungan mikro potensial. Air murni memiliki $a_w = 1,0$. Hubungan mikroorganisme dengan a_w , beberapa kondisi dimana air di dalam substrat tidak dapat digunakan oleh mikroorganisme yaitu: (1) adanya gula dan garam, dimana ion dalam gula dan garam dapat mengikat air (atom H dalam H_2O), (2) koloid hidrofilik (gel) yang mampu mengikat air, (3) air dalam fase es.

Potensi oksidasi-reduksi (Eh)

Potensi reduksi-oksidasi atau redoks suatu zat didefinisikan dalam istilah rasio total kekuatan pengoksidasi (penerimaan elektron) terhadap total kekuatan reduksi (sumbangan elektron) dari suatu zat. Efeknya, potensial redoks adalah ukuran kemudahan yang digunakan suatu zat untuk mendapatkan atau kehilangan elektron. Potensial redoks (Eh) diukur dalam satuan milivolt. Elektroda oksigen standar teroksidasi penuh akan memiliki Eh +810 mV pada pH 7,0, 30°C (86° F), dan di bawah kondisi yang sama, elektroda hidrogen standar yang tereduksi sepenuhnya akan memiliki Eh sebesar -420 mV. Eh tergantung pada pH media; biasanya Eh diambil pada pH 7,0.

Kelompok utama mikroorganisme berdasarkan hubungannya dengan Eh untuk pertumbuhan adalah aerob, anaerob, aerob fakultatif, dan mikroaerofil. Contoh-contoh patogen bawaan makanan (foodborne pathogens) untuk masing-masing klasifikasi ini termasuk *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* O157: H7, dan *Campylobacter jejuni*, masing-masing. Secara umum, kisaran di mana mikroorganisme dapat tumbuh adalah sebagai berikut: aerob +500 hingga +300 mV; anaerob fakultatif +300 hingga -100 mV; dan anaerob +100 hingga kurang dari -250 mV (Ray 1996, p 69-70). Misalnya, *C. botulinum* adalah anaerob ketat yang membutuhkan Eh kurang dari +60 mV untuk pertumbuhan; namun, pertumbuhan yang lebih lambat dapat terjadi pada nilai Eh yang lebih tinggi. Hubungan Eh dengan pertumbuhan dapat secara signifikan dipengaruhi oleh adanya garam dan konstituen makanan lainnya. Misalnya, dalam satu penelitian dengan pengasapan, toksin diproduksi dalam produk yang diinokulasi dan disimpan pada suhu 15°C (59°F) dalam waktu tiga hari pada Eh +200 hingga +250 mV. Dalam hal ini, oksidan utama adalah trimetilamin oksida, yang menjadi akseptor elektron untuk *C. botulinum*. Anaerobe *Clostridium perfringens* dapat memulai pertumbuhan pada Eh mendekati +200 mV; Namun, dengan adanya peningkatan konsentrasi zat tertentu, seperti garam, Eh yang membatasi meningkat.

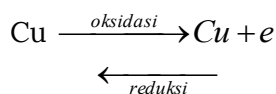
Nilai Eh yang diukur dari berbagai makanan diberikan pada Tabel 2.5. Nilai-nilai ini bervariasi tergantung pada perubahan pH makanan, pertumbuhan mikroba, pengemasan, tekanan parsial oksigen dalam lingkungan penyimpanan, dan bahan-bahan dan komposisi (protein, asam askorbat, gula pereduksi, tingkat oksidasi kation, dan sebagainya).

Tabel 2.5. Potensi Redoks beberapa produk makanan

Produk	Adanya udara	Eh (mV)	pH
Susu	+	+300 hingga +340	NR
Daging mentah	-	-60 hingga -150	5,7
Daging giling mentah	+	+225	5,9
Daging giling masak	+	+300	7,5
Sosis matang	-	-20 hingga -150	6,5
Jus anggur	-	+400	3,9
Jus lemon	-	+383	2,2
Jus bayam	-	+74	6,2
Makanan kaleng normal.	-	-130 hingga -550	>4,4
Makanan kaleng asam	-	-410 hingga -550	<4,4

NR = Not reported. Sumber Jay et al., 2005.

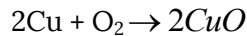
Faktor penting lainnya adalah kapasitas poising makanan. Kapasitas poising, yang analog dengan kapasitas buffer, berkaitan dengan sejauh mana suatu makanan menolak perubahan yang dipengaruhi eksternal dalam *Eh*. Kapasitas poising makanan akan dipengaruhi oleh pengoksidasi dan mengurangi konstituen dalam makanan serta olehadanya sistem enzim pernapasan aktif. Buah-buahan dan sayuran segar dan makanan berdaging akan terus bernafas; dengan demikian nilai *Eh* rendah dapat dihasilkan. Konsentrasi oksigen dalam bahan pangan atau makanan dan lingkungan mempengaruhi jenis mikrobia yang dapat tumbuh. Misalnya adanya mikroba yang aerobic, anaerobic, anaerobic fakultatif, mikroaerofilik. Tersedianya oksigen dalam suatu bahan dipengaruhi oleh potensial oksidasi reduksi dari bahan tersebut. Potensial oksidasi-reduksi yaitu kemampuan suatu bahan pangan untuk melepaskan atau memperoleh elektron. Ketika sebuah elemen atau senyawa kehilangan electron, maka substrat tersebut adalah teroksidasi, sedangkan ketika suatu substrat memperoleh electron maka menjadi mereduksi.



Lose e⁻ ----> oxidized +Eh

Gain e⁻ ----> reduced -Eh

Oksidasi dapat juga dicapai melalui penambahan oksigen sebagai berikut:



Oleh karena itu, suatu substrat yang mudah memberikan electron disebut sebagai agensia pereduksi, dan substrat yang mudah mengambil/menerima electron sebagai agensia pengoksidasi. Ketika electron ditransfer dari satu senyawa ke senyawa lain, timbul suatu perbedaan potensial diantara kedua senyawa tersebut. Perbedaan potensial ini diukur menggunakan instrument yang sesuai dan diekspresikan sebagai millivolt (mV). Semakin tinggi subtract teroksidasi maka semakin positif potensial listriknya. Semakin tinggi substrat tereduksi semakin negative nilai potensial listrik substrat tersebut. Ketika potensial oksidasi reduksi seimbang atau sama maka terjadi potensial listrik nol. Potensial oksidasi reduksi (O/R) diekspresikan dengan symbol E_h . Mikroorganisme aerobic memerlukan E_h+ (teroksidasi) untuk pertumbuhannya, sedangkan anaerobic memerlukan E_h- (tereduksi) untuk pertumbuhannya. Diantara komponen senyawa dalam makanan yang dapat menjaga kondisi tereduksi adalah -SH dalam daging dan asam askorbat, dan gula tereduksi dalam buah dan sayuran. Oksidasi pelepasan elektron oleh suatu zat, bertambahnya bilangan oksidasi, reduksi pengambilan elektron oleh suatu zat, berkurangnya bilangan oksidasi. Pengukuran potensi redoks makanan cukup mudah dilakukan, baik untuk makanan berkomponen tunggal atau multikomponen. Untuk makanan multikomponen, selain pengukuran masing-masing komponen, potensi redoks area antarmuka dan lingkungan mikro harus dipertimbangkan. Namun, kesulitan muncul dalam mengambil pengukuran yang akurat dan memperhitungkan perbedaan seluruh makanan dan keseimbangan pada titik pengukuran. Pengukuran redoks mungkin dapat digunakan dalam kombinasi dengan faktor-faktor lain untuk mengevaluasi potensi pertumbuhan patogen.

Pengaruh Eh terhadap pertumbuhan mikroba.

Mikroorganisme berpengaruh pada nilai Eh dilingkungan pertumbuhannya seperti halnya terjadi pada nilai pH. Hal ini dapat dilihat terutama pada mikroorganisme aerobik yang dapat menurunkan Eh dalam lingkungannya sedangkan aerobik tidak dapat. Pada saat aerobik tumbuh, oksigen dalam media/substrat menurun, dan menyebabkan menurunnya Eh. Pertumbuhan tidak menjadi lambat, namun sel mikroba mampu menggunakan donasi O₂ atau substansi penerima hydrogen dalam medium. Hal ini mengakibatkan medium menjadi kekurangan senyawa teroksidasi dan kaya akan senyawa tereduksi. Eh medium dapat diturunkan oleh mikroba melalui produksi byproduk metabolit tertentu seperti H₂S yang mempunyai kapasitas untuk menurunkan Eh menjadi -300 mV. Karena H₂S mudah bereaksi dengan O₂, H₂S akan berakumulasi hanya dalam lingkungan anaerobik. Eh tergantung pada pH substrat dan hubungan antara Eh dan pH adalah nilai rH yang didefinisikan sebagai berikut:

$$Eh = 2,303 \frac{RT}{F} (rH - 2pH)$$

Dimana: R= 8,315 joule, F= 96,500 coulombs, dan T adalah suhu absolut.

Umumnya Eh diukur pada pH 7,0. Di alam Eh cenderung bernilai negative pada kondisi alkalin.

Agensia antimikroba

Beberapa makanan secara intrinsik mengandung senyawa antimikroba yang terjadi secara alami. Banyak terdapat konstituen antimikroba nabati, termasuk minyak atsiri, tanin, glikosida, dan resin, yang dapat ditemukan dalam makanan tertentu. Misalnya termasuk eugenol dalam cengkeh, allicin dalam bawang putih, aldehida sinamat dan eugenol dalam kayu manis, allyl isothiocyanate dalam mustard, eugenol dan thymol dalam sage, dan carvacrol (isothymol) dan timol di oregano. Konstituen antimikroba yang diturunkan dari tumbuhan termasuk phytoalexins dan lektin. Lektin adalah protein yang secara spesifik dapat berikatan dengan berbagai

polisakarida, termasuk glikoprotein pada permukaan sel. Melalui pengikatan ini, lektin dapat memberikan efek antimikroba. Konsentrasi pada umumnya senyawa-senyawa antimikroba dalam formulasi makanan relatif rendah, sehingga efek antimikrobanya rendah. Namun, senyawa antimikroba ini dapat menghasilkan stabilitas yang lebih besar jika di kombinasi dengan faktor-faktor lain dalam formulasi.

Beberapa makanan asal hewani juga mengandung konstituen antimikroba. Contohnya meliputi laktoferin, konglutinin dan sistem laktoperoksidase dalam susu sapi, lisozim dalam telur dan susu, dan faktor-faktor lain dalam daging segar, unggas dan makanan laut. Lisozim adalah protein kecil yang dapat menghidrolisis dinding sel bakteri. Sistem laktoperoksidase dalam susu sapi terdiri dari tiga komponen berbeda yang diperlukan untuk memberikan efek antimikroba: laktoperoksidase, tiosianat, dan hidrogen peroksida. Psikotrof Gram (-) seperti pseudomonad sangat sensitif terhadap sistem laktoperoksidase. Mirip dengan senyawa antimikroba yang berasal dari tumbuhan, senyawa antimikroba yang berasal dari hewan memiliki efek terbatas pada ambien umur simpan makanan.

Beberapa jenis pengolahan makanan menghasilkan pembentukan senyawa antimikroba dalam makanan. Ikan asap dan daging asap dapat menghasilkan pengendapan zat antimikroba ke permukaan produk. Senyawa Maillard yang dihasilkan dari reaksi kondensasi antara gula dan asam amino atau peptida pada pemanasan makanan tertentu dapat memberikan beberapa aktivitas antimikroba. Kondensat asap termasuk fenol, yang tidak hanya antimikroba, tetapi juga menurunkan pH permukaan. Beberapa prosesor juga menurunkan pH permukaan dengan asap cair untuk mencapai produk utuh yang stabil.

Beberapa jenis fermentasi dapat menghasilkan produksi alami zat antimikroba, termasuk bakteriosin, antibiotik, dan zat penghambat terkait lainnya. Bakteriocin adalah protein atau peptida yang diproduksi oleh strain bakteri tertentu yang menonaktifkan bakteri lain, yang biasanya berkaitan erat. Bakteriocin yang paling umum adalah bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat. Nisin lantibiotik yang diproduksi oleh galur *Lactococcus lactis*

tertentu adalah salah satu yang terbaik dari bakteriosin. Nisin diizinkan untuk diaplikasikan untuk makanan di lebih dari 50 negara di seluruh dunia. Aplikasi Nisin untuk makanan pertama adalah untuk mencegah keju Swiss yang diinokulasi oleh *Clostridium butyricum*. Nisin adalah polipeptida yang efektif terhadap sebagian besar bakteri Gram + tetapi tidak efektif terhadap organisme Gram -. Nisin dapat diproduksi dalam makanan oleh kultur starter atau, lebih umum, nisin dapat digunakan sebagai aditif dalam bentuk preparasi terstandar. Nisin telah digunakan secara efektif untuk mengendalikan organisme pembentuk spora dalam formulasi keju olahan, dan telah terbukti memiliki efek interaktif dengan panas. Misalnya, suatu proses F_0 untuk makanan kaleng rendah asam konvensional mungkin berada dalam kisaran 6 - 8, tetapi dengan penambahan nisin, dapat dikurangi menjadi F_0 3 untuk menonaktifkan spora termofilik. Terdapat sejumlah bakteriosin lain dan antimikroba alami yang telah ditemukan, namun, bakteriosin tersebut mempunyai aplikasi yang sangat terbatas dalam penggunaan komersial sebagai pengawet makanan karena kisaran aktivitasnya dan kompatibilitas yang terbatas pada formulasi makanan.

Selain senyawa antimikroba yang terdapat secara alami dalam makanan, berbagai bahan pengawet dan aditif kimia dapat memperpanjang umur simpan makanan dan / atau menghambat patogen, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi. Pemilihan dan penggunaan bahan pengawet ini biasanya diatur oleh peraturan pemerintah tertentu. Sejumlah kriteria harus diikuti ketika memilih pengawet untuk aplikasi makanan tertentu. Idealnya, pengawet harus memiliki spektrum aktivitas yang luas terhadap target organisme pembusuk dan patogen yang diduga akan ditemui dalam makanan. Pengawet harus aktif selama masa simpan makanan yang dikehendaki dan pada kondisi formulasi makanan yang diharapkan. Penambahan zat pengawet harus menghasilkan dampak minimal terhadap organoleptik makanan dan tidak boleh mengganggu proses mikrobiologis yang diinginkan diharapkan terjadi dalam makanan, seperti pematangan keju atau pengembangan (leavening) pada makanan yang akan dipanggang.

Senyawa antimikroba yang ditambahkan dapat memiliki efek interaktif atau sinergis dengan parameter formulasi lainnya. Salah satu contoh adalah interaksi dengan pH. Banyak bahan pengawet memiliki kisaran pH optimal untuk efektivitas. Faktor-faktor lain termasuk a_w , adanya pengawet lainnya, jenis makanan, keberadaan enzim tertentu, suhu pemrosesan, atmosfer penyimpanan, dan koefisien partisi. Penggunaan kombinasi pengawet yang efektif dengan parameter fisika-kimia lainnya dari formulasi makanan dapat menstabilkan makanan terhadap organisme pembusuk atau patogen. Tabel 2.6 menunjukkan beberapa kombinasi bahan pengawet yang digunakan dalam makanan. Leistner secara sistematis mengembangkan "konsep rintangan" (Hurdle concept) untuk menggambarkan efek ini. Hurdle concept/Konsep rintangan menyatakan bahwa beberapa faktor penghambat (rintangan), secara individual tidak dapat menghambat mikroorganisme, dan akan efektif dalam kombinasi. Contoh klasik dari penerapan *Hurdle concept*/konsep rintangan adalah stabilitas anti-botulinal dari formulasi keju olahan. Kombinasi kelembaban, garam total, dan pH dapat memberikan penyimpanan yang aman pada produk keju olahan pada suhu kamar untuk waktu yang lama meskipun faktor secara individu, tidak akan memberikan hasil yang sama. Dalam produk kombinasi, efektivitas antimikroba dapat diubah oleh faktor-faktor lain termasuk potensi migrasi antimikroba ke komponen makanan lain dan berbagai parameter makanan di area antar muka.

Table 2.6. Bahan pengawet dan kombinasinya yang sering digunakan untuk produk makanan tertentu.

Produk	Nitrat, nitrit	Sulfur dioksida	Asam asetat	Asam propionat	Asam sorbit	Asam bensoat	BHA, BH	Asap	Nisin	Paraben
Emulsi lemak	-	-	+	-	++	+	+	-	-	+
Daging	++	-	-	-		-	-		-	-
Seafood										+
Sayuran	-	+	++	-	++	++	+	-	-	-
Buahan	-	++	+	-	++	++	+	-	-	+
Minuman	-	+	-	-	++	++	+	-	-	+
Retotian	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+
Confectionary	-	-	-	-	++	+	+	-	-	-

Keterangan: ++ sering digunakan, + kadang kadang digunakan, - tidak digunakan.
Sumber Jay et al., 2005.

Terdapat sejumlah formulasi makanan yang, baik dengan penambahan bahan pengawet atau melalui penerapan konsep Hurdle/rintangan, tidak memerlukan pendinginan untuk stabilitas atau keamanan mikrobiologis. Namun, dengan tidak adanya model mikrobiologis yang terdefinisi dengan baik dan divalidasi, biasanya sulit untuk mengevaluasi keamanan mikrobiologis dari produk ini. Beberapa agensia antimikroba terdapat di dalam produk secara alami. Antimikroba alami meliputi lactenin dalam susu mencegah bakteri Gram +, lysozyme dalam telur mencegah bakteri Gram +, asam benzoate dalam buah kranberi mencegah kapang, eugenol dalam cengkeh mencegah bakteri.

Struktur biologi

Struktur biologi bahan pangan atau produk sebagai faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Cangkang telur yang masih utuh tidak rusak sebagai struktur biologi telur yang melindungi isi telur. Kulit luar buah melindungi daging dan buah. Kulit kacang (shell) melindungi isi atau kotiledon kacang. Kulit hewan melindungi badan hewan. Makanan yang berasal dari tumbuhan dan hewan, terutama dalam keadaan mentah, memiliki struktur biologis yang dapat mencegah masuknya dan pertumbuhan mikroorganisme patogen. Contoh-contoh dari hambatan/barrier fisik tersebut termasuk testa biji, kulit buah-buahan dan sayuran, cangkang kacang, kulit binatang, kutikula telur, cangkang, dan membran. Makanan nabati dan hewani dapat memiliki mikroorganisme patogen yang melekat pada permukaan atau terperangkap di dalam lipatan atau celah permukaan. Struktur biologis yang utuh dengan demikian dapat menjadi penting dalam mencegah masuknya dan pertumbuhan mikroorganisme selanjutnya. Beberapa faktor dapat mempengaruhi penetrasi ke dalam barrier/hambatan tersebut.

Kematangan makanan nabati akan memengaruhi keefektifan barrier sebagai pelindung. Kerusakan fisik akibat penanganan selama panen, pengangkutan, atau penyimpanan, serta invasi serangga dapat memungkinkan penetrasi mikroorganisme. Selama persiapan makanan, proses seperti mengiris, memotong,

menggiling, dan membuang akan merusak barrier fisik. Dengan demikian, bagian dalam makanan dapat terkontaminasi dan pertumbuhan dapat terjadi tergantung pada sifat intrinsik makanan. Sebagai contoh, *Salmonella spp.* dapat tumbuh di bagian interior potongan melon, semangka, melon, dan tomat, dengan memperoleh waktu dan suhu yang cukup. Buah-buahan adalah merupakan contoh potensi mikroorganisme patogen untuk menembus barrier/hambatan secara utuh. Setelah panen, patogen akan bertahan tetapi biasanya tidak tumbuh di permukaan luar buah dan sayuran segar. Pertumbuhan pada permukaan yang utuh tidak umum karena patogen bawaan makanan (foodborne pathogen) tidak memproduksi enzim yang diperlukan untuk memecah barrier/penghalang pelindung luar pada produk. Barrier luar ini membatasi ketersediaan nutrisi dan kelembaban. Satu pengecualian adalah pertumbuhan *E. coli* O157: H7 pada permukaan semangka dan kulit melon. Kelangsungan hidup patogen bawaan makanan pada produk secara signifikan meningkat setelah barrier epidermis pelindung telah rusak baik oleh kerusakan fisik, seperti tusukan atau memar, atau oleh degradasi oleh patogen tanaman (bakteri atau jamur). Kondisi ini juga dapat meningkatkan perkembangan biakan patogen, terutama pada suhu yang lebih tinggi. Infiltrasi buah berdasarkan hukum gas umum, yang menyatakan bahwa setiap perubahan tekanan gas ideal dalam wadah tertutup dengan volume konstan berbanding lurus dengan perubahan suhu gas. Bartz dan Showalter mencontohkan tomat; walaupun, buah apa pun, seperti apel, dapat dianggap sebagai wadah yang tidak sepenuhnya tertutup. Saat wadah atau buah mendingin, penurunan tekanan gas internal menghasilkan vakum parsial di dalam buah, yang kemudian menghasilkan influx dari lingkungan eksternal. Misalnya, masuknya patogen dari permukaan buah atau air pendingin dapat terjadi sebagai akibat dari peningkatan tekanan eksternal karena merendam buah hangat dalam air dingin. Internalisasi bakteri ke dalam buah-buahan dan sayuran juga dapat terjadi karena kerusakan pada jaringan atau melalui struktur morfologi pada buah itu sendiri, seperti bekas luka pada kelopak atau batang.

Telur adalah contoh bagus lain dari struktur biologis yang efektif yang, ketika utuh, akan mencegah kontaminasi mikroba eksternal pada kuning telur yang mudah rusak. Namun kontaminasi sangat mungkin terjadi, bagaimanapun, melalui infeksi transovarian. Agar bagian dalam telur terkontaminasi oleh mikroorganisme yang ada di permukaan, maka harus ada penetrasi kulit cangkang dan selaputnya. Selain itu, putih telur mengandung faktor antimikroba. Ketika terjadi kerusakan menembus membran bagian dalam telur, mikroorganisme menembus ke dalam telur. Faktor-faktor seperti suhu penyimpanan, kelembaban relatif, usia telur, dan tingkat kontaminasi permukaan akan mempengaruhi internalisasi. Misalnya, kondisi seperti kelembaban tinggi dan cangkang basah dan kotor, bersama dengan penurunan suhu penyimpanan akan meningkatkan kemungkinan masuknya bakteri. Jika telur dicuci, air cuci harus 12°C (22°F) lebih tinggi dari suhu telur mencegah penetrasi mikroba. Setelah dicuci, telur harus dikeringkan dan kemudian didinginkan. Food and Drug Administration (FDA) menerbitkan aturan yang berlaku untuk telur yang belum diproses untuk menghancurkan semua *Salmonella* hidup sebelum didistribusikan kepada konsumen. Aturan tersebut mengamanatkan bahwa telur harus dijaga tetap kering dan dingin di bawah 7,2°C (45°F) untuk mencegah pertumbuhan *Salmonella enteritidis*. Pemanasan makanan serta jenis makanan olahan lainnya akan merusak struktur biologis sebagai pelindung dan mengubah faktor-faktor seperti pH dan a_w . Perubahan ini berpotensi memungkinkan pertumbuhan patogen mikroba.

Mikroflora kompetitif

Potensi pertumbuhan mikroba patogen pada makanan yang sensitif terhadap suhu tergantung pada kombinasi faktor intrinsik dan ekstrinsik, dan teknologi pemrosesan yang telah diterapkan. Pada populasi mikroflora dalam makanan, terdapat banyak atribut biologis penting dari organisme yang mempengaruhi timbulnya spesies yang dominan. Hal ini termasuk laju pertumbuhan individu dari strain mikroba dan interaksi timbal balik (mutual) atau pengaruh diantara spesies dalam populasi campuran.

Pertumbuhan

Dalam lingkungan makanan, suatu organisme tumbuh dengan cara yang khas dan pada laju pertumbuhan yang khas. Panjang fase lag, waktu generasi, dan hasil total sel ditentukan oleh faktor genetik. Akumulasi produk metabolisme dapat membatasi pertumbuhan spesies tertentu. Jika produk metabolik pembatas dapat digunakan sebagai substrat oleh spesies lain, dapat mengambil alih (sebagian atau seluruhnya), sehingga menciptakan suatu asosiasi. Karena kompleksnya interaksi yang berkelanjutan antara faktor-faktor lingkungan dan mikroorganisme, suatu makanan pada suatu saat memiliki karakteristik/cirikhas flora, yang dikenal sebagai asosiasinya. Profil mikroba berubah terus-menerus, dan jika suatu saat satu asosiasi mikroba berhasil unggul dari yang lain maka disebut sebagai suksesi. Banyak contoh fenomena ini terjadi pada kerusakan oleh mikroba dan pembusukan makanan. Selama organisme tetap aktif secara metabolik, organisme ini terus berinteraksi, sehingga dominasi pada flora terjadi sebagai proses yang dinamis. Berdasarkan meningkatnya pertumbuhan atau terhambatnya pertumbuhan, interaksi ini bersifat antagonis atau sinergis.

Kompetisi

Dalam sistem pangan, proses antagonis biasanya mencakup persaingan untuk nutrisi, persaingan untuk tempat perlekatan /adhesi (ruang), perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan, dan kombinasi dari faktor-faktor tersebut. Studi awal menunjukkan bahwa biota alami kue pie beku menghambat sel-sel *S. aureus*, *E. coli* dan *Salmonella typhimurium* yang diinokulasi. Contoh lain dari fenomena ini adalah daging sapi mentah. Meskipun *S. aureus* sering ditemukan dalam jumlah rendah dalam produk daging mentah, enterotoksin stafilokokus tidak diproduksi. Alasannya adalah bahwa asosiasi *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella* yang selalu hadir dalam daging ini tumbuh pada tingkat yang lebih tinggi, melebihi staphylococci. Organisme dengan aktivitas metabolisme tinggi dapat mengonsumsi nutrisi yang dibutuhkan, secara selektif mengurangi ketersediaan zat-zat ini, dan menghambat pertumbuhan organisme lain. Menipisnya oksigen atau akumulasi karbon dioksida

mendukung anaerob obligat fakultatif yang terjadi pada daging segar kemasan vakum yang disimpan di bawah pendingin.

Staphylococcus sangat sensitif terhadap penipisan nutrisi. Coliforms dan *Pseudomonas spp.* dapat menggunakan asam amino yang diperlukan untuk pertumbuhan stafilocokus sehingga mengakibatkan asam amino tidak tersedia. Genera Micrococcaceae lainnya dapat memanfaatkan nutrisi lebih cepat daripada stafilocokus. Streptococci menghambat stafilocokus dengan menghabiskan pasokan nikotinamid atau niasin dan biotin. *Staphylococcus aureus* adalah pesaing yang lemah dalam makanan segar dan beku. Pada suhu yang mendukung pertumbuhan stafilocokus, biota saprofitik normal pada makanan memberikan perlindungan pada makanan terhadap pertumbuhan stafilocokus melalui antagonisme, persaingan untuk nutrisi, dan modifikasi lingkungan untuk kondisi yang kurang menguntungkan bagi *S. aureus*. Perubahan komposisi makanan, serta perubahan faktor intrinsik atau ekstrinsik dapat menstimulasi atau mengurangi efek kompetitif.

Efek pada penghambatan pertumbuhan.

Perubahan dalam stimulasi pertumbuhan telah berlangsung di antara beberapa organisme bawaan makanan (foodborne organisms), termasuk ragi, mikrokokokus, streptokokokus, lactobacilli dan Enterobacteriaceae. Mekanisme stimulasi pertumbuhan dapat memberikan pengaruh signifikan pada penumpukan floratipikal/khas. Ada beberapa mekanisme stimulasi tersebut, beberapa di antaranya tercantum di bawah ini:

- a. Produk metabolit dari satu organisme dapat diserap dan dimanfaatkan oleh organisme lain.
- b. Perubahan pH dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Contohnya adalah fermentasi alami, di mana produksi asam membentuk dominasi organisme yang toleran terhadap asam seperti bakteri asam laktat. Pertumbuhan jamur pada makanan asam tinggi dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan pH, sehingga merangsang pertumbuhan *C. botulinum*.

- c. Perubahan E_h atau a_w dalam makanan bisa memengaruhi simbiosis. Pada suhu hangat, *C. perfringens* dapat menurunkan potensi redoks dalam jaringan hewan yang baru disembelih sehingga organisme anaerob yang lebih dapat tumbuh.
- d. Terdapat beberapa asosiasi di mana pertumbuhan maksimum dan aktivitas metabolisme normal tidak berkembang kecuali kedua organisme harus ada/hadir.

Informasi ini dapat digunakan dalam konsep Hurdle untuk mengendalikan mikroorganisme dalam makanan yang sensitif terhadap suhu.

Parameter ekstrinsik

Faktor ekstrinsik yaitu beberapa faktor yang disebabkan oleh lingkungan tempat pertumbuhan mikroba. Faktor ekstrinsik dapat dikendalikan atau diubah oleh manusia sesuai dengan yang diperlukan. Faktor ekstrinsik meliputi: suhu, waktu, kelembaban udara (Rh), keberadaan gas, dan kondisi fisik.

Pengaruh Suhu dan waktu terhadap Pertumbuhan Mikroba

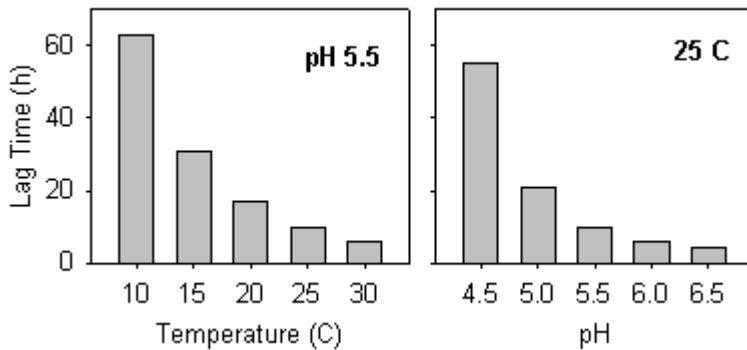
Pengaruh waktu.

Ketika mempertimbangkan laju pertumbuhan mikroba patogen, selain suhu, waktu adalah pertimbangan penting. Produsen atau industri makanan membahas konsep waktu karena berkaitan dengan pertumbuhan mikroba ketika umur simpan suatu produk ditentukan. Umur simpan adalah periode waktu dari saat produk diproduksi hingga waktu yang dimaksudkan untuk dikonsumsi atau digunakan. Beberapa faktor digunakan untuk menentukan umur simpan suatu produk, mulai dari kualitas organoleptik hingga keamanan mikrobiologis. Untuk tujuan laporan dalam industri pangan, pertimbangan utamanya adalah keamanan mikrobiologis produk. Peraturan The Uniform Open Dating mensyaratkan umur simpan produk makanan yang mudah rusak untuk dinyatakan dalam bentuk tanggal "jual pada" (*sell by date*). Tanggal "jual pada" harus memasukkan umur simpan produk ditambah periode konsumsi yang masuk akal yang terdiri dari setidaknya sepertiga dari perkiraan total umur simpan produk makanan yang mudah rusak. Pada pasar ritel atau layanan makanan, periode waktu tambahan yang disebut di sini sebagai "periode penggunaan" (*use-period*) juga harus

dipertimbangkan. Sebagai contoh, lokasi makanan cepat saji mungkin secara operasional menginginkan untuk menyimpan irisan keju olahan pada suhu kamar untuk waktu shift lengkap atau waktu penyajian makan, yang mungkin lebih dari 4 jam. Praktek *use-period* memberikan efisiensi operasional dengan membiarkan keju meleleh lebih cepat pada sebuah sandwich panas dan juga memberikan berkualitas sandwich lebih baik. Meskipun pendinginan mungkin diperlukan untuk keamanan dalam kondisi penyimpanan jangka panjang, untuk periode penggunaan (*use-period*) yang diukur dalam jam, penyimpanan pada suhu ruang mungkin dapat diterima.

Dalam keadaan tertentu, parameter waktu saja pada suhu sekitar ruang dapat digunakan untuk mengontrol keamanan produk. Ketika waktu digunakan sebagai kontrol, durasi harus sama dengan atau kurang dari fase lag dari patogen yang menjadi perhatian dalam produk yang bersangkutan. Untuk produk makanan yang didinginkan, masa simpan atau periode penggunaan yang diperlukan untuk keamanan produk dapat bervariasi tergantung pada suhu di mana produk disimpan. Sebagai contoh, fase Lag untuk pertumbuhan *L. monocytogenes* pada 10°C (50°F) adalah 1,5 hari, sedangkan pada 1°C (34°F) fase Lag adalah ~ 3,3 hari. Demikian juga, dilaporkan bahwa pada 10°C (50°F) waktu generasi untuk organisme yang sama adalah 5-8 jam, sedangkan pada 1°C (34°F), waktu generasi adalah antara 62 dan 131 jam. Gambar 2.2 menunjukkan pengaruh suhu dan pH pada fase Lag *L. monocytogenes*. Data diperoleh dengan menggunakan USDA Pathogen Micromodel Programme (versi 5.1) pada konsentrasi NaCl 2% dan a_w 0,989. Perlu dicatat bahwa model ini dikembangkan dalam kaldu di bawah berbagai kombinasi garam dan pH, dan bahwa pertumbuhan bakteri dalam sistem pangan kemungkinan akan berbeda. Menurut hasil model, pergeseran suhu dari 10 (50) ke 25°C (77°F) mengurangi fase Lag *L. monocytogenes* dari 60 menjadi 10 jam. Dengan cara yang sama, peningkatan pH dari 4,5 menjadi 6,5 mengurangi fase Lag dari 60 menjadi 5 jam. Sebagai kesimpulan, keamanan suatu produk selama masa simpannya mungkin berbeda, tergantung pada kondisi lain seperti suhu penyimpanan, pH produk, dan sebagainya. Berbagai

kombinasi waktu/suhu dapat digunakan untuk mengontrol keamanan produk tergantung pada tujuan penggunaan produk.



Gambar 2.2. Pengaruh suhu atau pH pada waktu fase lag pertumbuhan *L. monocytogenes* dari USDA PMP ver 5.1 (2% NaCl, aw 0.989) (Jay et al., 2005).

Seperti yang dinyatakan sebelumnya, waktu pada suhu ruang dapat digunakan untuk mengontrol keamanan produk. Ketika waktu digunakan sebagai kontrol, durasi harus sama dengan atau kurang dari fase lag dari patogen yang menjadi perhatian dalam produk yang bersangkutan.

Pengaruh suhu

Semua mikroorganisme memiliki kisaran suhu tertentu di mana mereka tumbuh, yaitu suhu minimum, maksimum, dan optimal. Pemahaman tentang interaksi antara waktu, suhu, dan faktor intrinsik dan ekstrinsik lainnya sangat penting untuk menentukan kondisi penyimpanan yang tepat untuk suatu produk makanan. Temperatur memiliki dampak terhadap waktu generasi dan periode/fase Lags suatu organisme. Pada kisaran suhu tertentu, laju pertumbuhan suatu organisme secara klasik didefinisikan sebagai suatu hubungan Arrhenius. Konstanta laju pertumbuhan log ditemukan sebanding dengan kebalikan dari suhu absolut

$$G = -\mu / 2.303 RT$$

Dimana, G = konstanta laju pertumbuhan Logaritmik (fase Log),

μ = suhu spesifik mikroba tertentu,

R = konstanta gas ideal

T = suhu (°K)

Hubungan di atas berlaku pada bagian linier dari plot Arrhenius. Namun, ketika suhu mendekati maksimum untuk mikroorganisme tertentu, laju pertumbuhan menurun lebih cepat daripada ketika suhu mendekati minimum untuk mikroorganisme tersebut. Berikut ini adalah hubungan yang lebih akurat memprediksi laju pertumbuhan mikroorganisme pada suhu rendah:

$$\sqrt{r} = b(T - T_0)$$

Dimana, r = laju pertumbuhan

b = slope dari garis lurus regression

T = temperature (°K)

T_0 = suhu koseptual tanpa signifikansi metabolic.

Pada suhu rendah, terdapat dua faktor yang mengatur titik di mana pertumbuhan berhenti: 1) laju reaksi untuk masing-masing enzim dalam organisme menjadi lebih lambat, dan 2) suhu rendah mengurangi fluiditas membran sitoplasma, sehingga mengganggu mekanisme transportasi. Pada suhu tinggi, komponen sel struktural menjadi terdenaturasi dan terjadi inaktivasi enzim yang peka terhadap panas. Sementara laju pertumbuhan meningkat dengan meningkatnya suhu, laju cenderung menurun dengan cepat sesudahnya, sampai suhu maksimum tercapai.

Hubungan antara suhu dan konstanta laju pertumbuhan bervariasi secara signifikan antar kelompok mikroorganisme. Terdapat empat kelompok utama mikroorganisme berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya: termofil, mesofil, psikrofil, dan psikrotrof. Tabel 2.7 mencantumkan kisaran suhu untuk keempat kelompok ini dan untuk patogen yang menjadi perhatian. Suhu optimal untuk pertumbuhan termofil adalah antara 55 hingga 65°C (131 hingga 149°F) dengan maksimum setinggi 90°C (194°F) dan minimum sekitar 40°C (104°F). Mesofil, yang mencakup hampir semua patogen manusia, memiliki kisaran pertumbuhan optimal

antara 30°C (86°F) dan 45°C (113°F), dan suhu pertumbuhan minimum mulai dari 5 hingga 10°C (41 hingga 50°F). Organisme psychrophilic memiliki kisaran pertumbuhan optimal 12°C (54°F) hingga 15°C (59°F) dengan kisaran maksimum 15°C (59° F) hingga 20°C (68° F). Hanya terdapat sangat sedikit organisme psikofilik sejati yang berdampak pada makanan. Psikrotrof seperti *L. monocytogenes* mampu tumbuh pada suhu rendah (minimal - 0,4°C [31° F] dan *C. botulinum* tipe E mampu tumbuh pada suhu 3,3°C [38°F], hingga suhu 5°C [41°F]), tetapi memiliki kisaran optimum pertumbuhan yaitu *L. monocytogenes* pada suhu 37°C [99°F] dan *C. botulinum* tipe E pada suhu 30°C [86°F] yang lebih tinggi daripada psikrofil sejati. Organisme psikrotrofik jauh lebih relevan dengan makanan dan termasuk bakteri pembusuk, khamir dan jamur pembusuk, serta patogen bawaan makanan tertentu.

Tabel 2.7. Kisaran suhu pertumbuhan mikroba.

Golongan mikroba	Suhu Minimum °C	Suhu Optimum °C	Suhu Maksimum °C
Mesofilik	20	37	45
Thermofilik	50	65	75
Psykrotrof	0	21	35
Psykrofilik	0	8	10

Sumber Jay et al., 2005

Suhu pertumbuhan digunakan untuk mengatur ekspresi dari gen virulensi pada patogen bawaan makanan tertentu. Sebagai contoh, ekspresi protein yang diatur oleh *Yersinia enterocolitica* virulence plasmid adalah pada suhu tinggi 37°C (99°F), rendah pada 22°C (72°F), dan tidak terdeteksi pada 4°C (39°F). Suhu pertumbuhan juga berdampak pada sensitivitas termal suatu organisme. *Listeria monocytogenes*, ketika dijaga suhunya pada 48°C (118°F) saat diinokulasi dalam sosis, akan mengalami peningkatan 2,4 kali lipat pada nilai D pada 64°C (147°F).

Harus ditekankan bahwa pada waktu fase Lag dan laju pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi tidak hanya oleh suhu tetapi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik lainnya. Sebagai contoh,

seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.8, tingkat pertumbuhan *Clostridium perfringens* secara signifikan lebih rendah pada pH 5,8 dibandingkan pH 7,2 di berbagai suhu. *Salmonella* tidak tumbuh pada suhu di bawah 5,2°C (41°F).

Table 2.8. Kisaran nilai pH pertumbuhan pathogen dalam makanan.

Mikroorganisme	pH minimum	pH optimum	pH maksimum
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5-5,8	7,2	8,0-9,0
<i>Vibrio vulnificus</i>	5,0	7,8	10,2
<i>Bacillus aureus</i>	4,9	6,0-7,0	8,8
<i>Campylobacter spp</i>	4,9	6,5-7,5	9,0
<i>Shigella spp</i>	4,9		9,3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	7,8-8,6	11,0
<i>Clostridium botulinum</i> toksin	4,6		8,5
<i>C. botulinum</i> (pertumbuhan)	4,6		8,5
<i>Staphylococcus aureus</i> toksin	4,5	7,0-8,0	9,6
<i>S. aureus</i> pertumbuhan	4,0	6,0-7,0	10,0
<i>Enterohemorrhagic E. coli</i>	4,4	6,0-7,0	9,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,3	7,0	9,4
<i>Salmonella spp</i>	4,2	7,0-7,5	9,5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	7,2	9,6

Sumber ICMSF, 1980 dalam Jay et al., 2005.

Faktor intrinsik dari produk makanan, bagaimanapun, telah terbukti berdampak pada kemampuan salmonella untuk tumbuh pada suhu rendah. *Salmonella senftenberg*, *S. enteritidis*, dan *S. manhattan* tidak dapat tumbuh dalam ham salad atau custard yang berada pada suhu 10°C (50°F), tetapi mampu tumbuh dalam ayam yang berada pada suhu 7°C (45°F). *Staphylococcus aureus* telah terbukti tumbuh pada suhu serendah 7°C (45°F), tetapi batas bawah untuk produksi enterotoksin adalah pada suhu 10°C (50°F). Secara umum, produksi toksin di bawah suhu 20°C (68° F) adalah lambat. Misalnya, dalam media laboratorium pada pH 7, waktu untuk menghasilkan kadar enterotoksin yang dapat dideteksi berkisar antara 78 - 98 jam pada suhu 19°C (66°F) hingga 14 - 16 jam pada suhu 26°C (79°F). Table 2.9 memperlihatkan pengaruh suhu dan waktu terhadap pertumbuhan bakteri.

Tabel 2.9. Efek suhu dan waktu terhadap pertumbuhan bakteri.

Suhu °C/°F	Pertumbuhan	Waktu	Binary
100/212	Bakteri mati pada suhu boiling pada waktu yang cukup. Makin lama waktu pemanasan makin tinggi jumlah kematian mikroba.	12.00 12.20	1 2
62,8/145 40/104 37,7/100	Bakteri multiplikasi pada laju yang rendah Bakteri bermultiplikasi	12.40 13.00 14.00	4 8 64
37/9,6 36,1/97 15/59 7,2/45 0/32 Freezing	Bakteri multiplasi dengan laju tinggi Bakteri bermultiplikasi Bakteri bermultiplikasi dengan laju rendah	15.00 16.00 17.00 18.00 19.00	512 4096 32768 262144 2097152

Sumber Hopps dalam Jay et al., 2005.

Kondisi yang kurang menguntungkan, seperti penurunan pH, memperlambat produksi enterotoksin bahkan jauh lebih lambat. Selain suhu, waktu juga memberi efek terhadap laju pertumbuhan mikroba. Dalam kaitannya dengan pembusukan makanan maka simpan makanan yang dikonsumsi pada kondisi panas pada suhu panas, dan makanan yang dikonsumsi pada kondisi dingin pada suhu dingin (*keep hot foods hot and cold foods cold to prevent spoilage*).

Jenis kemasan/lingkungan udara sekitar.

Penelitian ilmiah mengenai aktivitas antimikroba gas pada tekanan ambient dan sub-ambient terhadap mikroorganisme penting dalam makanan. Gas menghambat mikroorganisme melalui dua mekanisme. Pertama, gas memiliki efek toksik langsung yang dapat menghambat pertumbuhan dan proliferasi mikroba. Karbon dioksida (CO₂), ozon (O₃), dan oksigen (O₂) adalah gas yang secara

langsung beracun bagi mikroorganisme tertentu. Mekanisme penghambatan ini tergantung pada sifat kimia dan fisik gas dan interaksinya dengan kandungan airdan lipid dalam makanan. Radikal pengoksidasi yang dihasilkan oleh O_3 dan O_2 sangat beracun bagi bakteri anaerob dan dapat memiliki efek penghambatan pada aerob tergantung pada konsentrasinya. Karbon dioksida efektif terhadap aerob obligat dan pada konsentrasi tinggi dapat menghalangi mikroorganisme lainnya. Mekanisme penghambatan kedua adalah dengan memodifikasi komposisi gas. Komposisi gas ini memiliki efek penghambatan tidak langsung dengan mengubah ekologi lingkungan pertumbuhan mikroba. Ketika atmosfer diubah, lingkungan kompetitif juga diubah. Atmosfer yang memiliki efek negatif pada pertumbuhan satu mikroorganisme tertentu dapat mendorong pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Efek ini mungkin memiliki konsekuensi positif atau negatif tergantung pada mikroflora patogen alami dan substratnya. Penggantian oksigen dengan nitrogen adalah contoh aktivitas antimikroba tidak langsung ini.

Berbagai teknologi digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dan sebagian besar metode ini bergantung pada suhu untuk menambah efek penghambatan. Berbagai teknologi termasuk pengemasan atmosfer yang dimodifikasi (MAP), pengemasan atmosfer terkontrol (CAP), pengemasan atmosfer terkontrol (CAS), penambahan langsung karbon dioksida (DAC), dan penyimpanan hipobarik.

Pengemasan dengan Atmosfer terkontrol dan modifikasi atmosphere pada makanan tertentu dapat memperpanjang umur simpannya. Penggunaan CO_2 , N_2 , dan etanol adalah contoh aplikasi MAP. Secara umum, efek penghambatan CO_2 meningkat dengan penurunan suhu karena meningkatnya kelarutan CO_2 pada suhu yang lebih rendah. Karbon dioksida larut dalam makanan dan menurunkan pH makanan. Nitrogen, sebagai gas inert, tidak memiliki sifat antimikroba langsung. Ini biasanya digunakan untuk memindahkan oksigen dalam kemasan makanan baik sendiri atau dalam kombinasi dengan CO_2 , sehingga memiliki efek penghambatan tidak langsung pada mikroorganisme aerob.

Tabel 2.10 menunjukkan beberapa contoh kombinasi gas untuk aplikasi MAP dalam daging, unggas, makanan laut, keju keras, dan makanan yang dipanggang.

Tabel 2.10. Komposisi campuran gas untuk penyimpanan beberapa produk dengan teknik MAP

Jenis Produk	% CO ₂	% O ₂	% N ₂
Daging segar	30 15-40	30 60-85	40 0
Daging kering	20-50	0	50-80
Produk unggas	25-30 100 20-40	0 0 60-80	7 0-75 0
Ikan (putih)	40	30	30
Ikan (berlemak)	60	0	40
Sandwich	20-100	0-10	0-100
Produk bakery	20-70 0 100	0 0 0	20-80 100 0

Sumber Jay et al., 2005.

Prinsip pengawetan menggunakan atmosfer sebagai antimikroba telah diterapkan pada buah-buahan dan sayuran, daging sapi mentah, ayam dan ikan, makanan susu termasuk susu dan keju cottage, telur, dan berbagai makanan siap saji yang siap dimakan. Ada beberapa faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi keberhasilan atmosfer antimikroba. Faktor-faktor ini yaitu termasuk suhu produk, perbandingan volume gas produk dengan lingkungan/ruang atmosphere kemasan, jumlah mikroba awal dan jenisnya, sifat-sifat penghalang/barrierkemasan, dan komposisi biokimia dari makanan. Semua faktor tersebut berinteraksi untuk menentukan sejauh mana kualitas dan keamanan

mikroba dapat ditingkatkan. Suhu, faktor terpenting yang mempengaruhi keberhasilan metode atmosfer antimikroba, karena suhu secara langsung memengaruhi laju pertumbuhan, tetapi juga secara tidak langsung memengaruhi pertumbuhan mikroba dengan memengaruhi kelarutan gas.

Pada suhu penyimpanan makanan umumnya, konfigurasi pengemasan, terutama rasio volume produk terhadap headspace, memiliki peran utama dalam menentukan besarnya hambatan mikroba. Dalam MAP, sifat barrierkemasan memiliki efek yang besar pada pertumbuhan mikroba dengan memengaruhi waktu di mana modifikasi gas atmosfer yang dipilih tetap berhubungan dengan produk dan kecepatan oksigen masuk ke dalam kemasan.

Aktivitas air, kadar garam dalam fase air, pH, dan kandungan lemak makanan juga memainkan peran dalam keseluruhan efek penghambatan gas sebagai antimikroba. Seperti halnya suhu, karakteristik fisik dan kimia makanan memiliki efek pada kelarutan gas penghambat. Misalnya, meningkatkan konsentrasi garam mengurangi kelarutan CO₂.

Pertimbangan keamanan pangan utama dalam upaya memperpanjang usia simpan makanan oleh MAP atau teknologi terkait adalah hilangnya nilai sensorik disebabkan oleh pembusukan yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri. Tanpa indikator bakteri pembusuk, dapat dibayangkan bahwa makanan dapat memiliki kualitas organoleptik yang dapat diterima, tetapi menjadi tidak aman. Hilangnya efek penghambatan kompetitif oleh bakteri pembusuk paling jelas diketahui dari populasi bakteri patogen anaerob fakultatif dalam makanan pada kondisi dimana atmosfer yang telah berubah. Dengan menggabungkan atmosfer sebagai antimikroba dengan teknik lain, strategi teknologi Hurdle dapat dihasilkan yang selanjutnya dapat meningkatkan kualitas dan keamanan pangan.

Kondisi penyimpanan

Kondisi penyimpanan yang dibahas dalam bab ini terbatas pada suhu penyimpanan, dan waktu / suhu yang terlibat dalam pendinginan produk yang diolah, dan kelembaban relatif di mana bahan makanan atau kemasan terpapar. Faktor-faktor lain yang dapat dimasukkan sebagai pertimbangan penting untuk penyimpanan, seperti keefektifan bahan kemasan dalam mempertahankan karakteristik tertentu, tidak dibahas dalam bab ini.

Ketika mempertimbangkan laju pertumbuhan patogen mikroba, waktu dan suhu adalah integral dan harus dipertimbangkan bersama. Seperti yang telah dinyatakan sebelumnya, peningkatan penyimpanan dan / atau suhu tampilan (display) akan mengurangi umur simpan makanan dingin karena semakin tinggi suhu, semakin banyak kondisi permisif untuk pertumbuhan mikroba. Pada saat yang sama, makanan-makanan yang telah dimasak tersebut atau makanan yang dipanaskan kembali dan disajikan atau dipertahankan pada kondisi panas akan memerlukan waktu / kontrol suhu yang tepat untuk keamanan produk makanan tersebut. Sebagai contoh, organisme utama yang menjadi perhatian untuk daging yang dimasak dan produk yang mengandung daging adalah *C. perfringens*. Gejala penyakit timbul setelah menelan sejumlah besar (lebih dari 10^8) sel vegetatif. *C. perfringens* memiliki rentang pertumbuhan optimal 43 - 47°C (109-116°F) dan rentang pertumbuhan 12-50°C (54 - 122°F). Waktu generasi 8 menit terjadi pada makanan tertentu dalam kondisi optimal. Jadi manajemen waktu/suhu sangat penting untuk keamanan produk.

Beberapa contoh wabah penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh lambatnya proses mendinginkan makanan, sehingga memungkinkan pertumbuhan bakteri patogen. Yang menjadi perhatian utama dalam hal ini adalah patogen pembentuk spora yang memiliki waktu Lag yang relatif singkat dan kemampuan untuk tumbuh dengan cepat dan/atau yang biasanya berada dalam jumlah besar. Organisme yang memiliki karakteristik seperti itu termasuk *C. perfringens*, dan *Bacillus cereus*. Seperti halnya *C. perfringens*, penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh *B.*

cereus biasanya dikaitkan dengan konsumsi makanan yang mengandung kondisi yang mendukung pertumbuhan organisme ke jumlah yang relatif tinggi. FDA "Bad Bug Book" mencatat bahwa "Kehadiran sejumlah besar *B. cereus* (lebih besar dari 10^6 organisme /g) dalam makanan merupakan indikasi pertumbuhan aktif dan proliferasi organisme dan konsisten dengan potensi bahaya terhadap kesehatan". Dalam hal ini, waktu dan suhu (laju pendinginan) dari makanan tertentu harus diperhatikan untuk memastikan waktu pendinginan yang cepat untuk keamanan makanan tersebut.

Efek dari kelembaban relatif lingkungan penyimpanan pada keamanan makanan agak lebih samar. Efek R_h mungkin atau mungkin tidak mengubah a_w makanan. Perubahan R_h tersebut tergantung pada produk makanan itu sendiri. Umumnya, makanan bergantung pada a_w tertentu untuk keamanannya dan umur simpan perlu disimpan sedemikian rupa sehingga lingkungan tidak secara nyata mengubah karakteristik ini. Produk makanan pada akhirnya akan mencapai kesetimbangan kelembaban (R_h) dengan lingkungannya. Karenanya, prosesor dan distributor perlu menyediakan kondisi penyimpanan yang sesuai untuk memperhitungkan keadaan ini.

Pengemasan, akan memainkan peran utama dalam kerentanan makanan terhadap pengaruh kelembaban relatif. Tetapi bahkan dalam wadah tertutup, migrasi kelembaban dan fenomena fluktuasi suhu lingkungan juga berperan dalam penyebab kerentanan (mudah rusaknya suatu peoruk makanan) produk makanan. Produk makanan tertentu dengan a_w rendah akan mengalami kondensasi kelembaban pada bagian permukaan karena perubahan suhu lingkungan yang luas. Air permukaan akan menghasilkan lingkungan mikro yang menguntungkan bagi pertumbuhan mikroorganisme perusak, dan kemungkinan mikroba patogen. Sebagai pedoman umum, produk harus disimpan sedemikian rupa sehingga kelembaban lingkungan, termasuk yang ada dalam kemasan, tidak memiliki kesempatan untuk mengubah a_w produk dengan cara yang tidak menguntungkan.

Tahap pengolahan

Definisi tentang "makanan yang berpotensi berbahaya" mempertimbangkan efek pengolahan dengan cara yang sama seperti yang dipertimbangkan terhadap pH dan a_w . Pengolahan makanan dibagi menjadi dua kategori. Makanan kaleng rendah asam dalam wadah yang tertutup rapat tidak membutuhkan kontrol suhu untuk keamanan. Namun tidak untuk mengatasi makanan yang kurang diproses, dalam kemasan yang kurang kuat, yang masih tidak memerlukan kontrol suhu untuk keamanan. Mengenai produk yang dipanggang, seperti pai, dengan pH 5,5 dan a_w dari 0,96, karena produk pie ini dipanggang pada suhu internal $>180^\circ\text{F}$ (82°C) untuk mengatur struktur produk pie, maka pie ini tidak akan mengandung patogen vegetatif. Setiap spora patogen yang masih hidup dari proses pemanggangan, akan dihambat oleh pH dan nilai a_w yang tercantum di atas. Jika produk didinginkan dan dikemas dalam kondisi yang tidak memungkinkan kontaminasi ulang dengan patogen vegetatif, produk tersebut aman dan stabil pada suhu kamar sampai dikonsumsi, atau sampai pertimbangan kualitas (yaitu staling) membuatnya tidak enak.

Kriteria ilmiah untuk menentukan apakah makanan memerlukan waktu / kontrol suhu untuk menjaga keamanan pangan maka perlu mempertimbangkan (1) proses yang dapat mematikan sel vegetatif tetapi tidak spora (ketika formulasi produk mampu menghambat perkecambahan spora); (2) penanganan pasca-proses dan kondisi pengemasan yang mencegah reintroduksi patogen vegetatif pada atau ke dalam produk sebelum pengemasan; dan (3) penggunaan bahan pembungkus yang walaupun tidak memberikan segel kedap udara, namun dapat mencegah reintroduksi patogen vegetatif ke dalam produk.

2. Faktor faktor Lain

Teknik pengawetan makanan tradisional telah menggunakan kombinasi pH, a_w , atmosfer, berbagai pengawet, dan faktor penghambat lainnya. Ahli mikrobiologi sering menyebut fenomena ini sebagai "efek Hurdle". Sebagai contoh, produk daging dan acar olahan tertentu dapat menggunakan rasio garam-vs-kadar air (rasio air garam/brine) untuk mengendalikan patogen. USDA mengakui

strategi ini dalam menetapkan sebagai sosis semi-kering yang stabil dengan rasio protein-kadar air kurang dari atau sama dengan 3,1: 1 dan pH kurang dari atau sama dengan 5,0. Dalam salad dressing dan produk mayones, rasio asam-vs-kadar air bersama dengan pH adalah faktor yang mengatur untuk kontrol patogen. Rasio asam: kadar air > 0,70 dalam kombinasi dengan pH <4,1 adalah sering digunakan sebagai tingkat target kontrol-patogen untuk produk salad. Biasanya, rasio ini dikombinasikan dengan faktor-faktor lain seperti pH atau antimikroba tambahan untuk memberikan pengaruh terhadap kontrol patogen. Interaksi faktor-faktor inilah yang mengendalikan kemampuan patogen berkembang biak dalam makanan. Terlepas dari lama nya pengakuan terhadap konsep teknologi Hurdle (kemungkinan efek sinergisme menggabungkan berbagai faktor penghambat), definisi tentang potensi bahaya makanan hanya mempertimbangkan pH dan a_w secara mandiri, dan tidak membahas interaksinya. Oleh karena itu interaksi ini harus dipertimbangkan.

Kemajuan ilmiah dalam hal prediksi mikrobiologi makanan selama dua dekade terakhir telah menunjukkan bahwa berbagai perbedaan faktor penghambat yang mungkin tidak mampu mencegah pertumbuhan patogen ketika bekerja secara tunggal maka sebaliknya akan mencegah pertumbuhan patogen saat digunakan secara bersamaan. Perlu dicatat bahwa model ini dikembangkan dalam kaldu dengan kombinasi garam dan pH dan bahwa pertumbuhan bakteri dalam sistem makanan kemungkinan akan berbeda. Juga, garam yang digunakan untuk mengontrol a_w menghasilkan efek penghambatan mikroba tambahan yang mungkin kurang jika senyawa lain digunakan.

3. Metabolisme nutrisi oleh mikroorganisme

1. Untuk pertumbuhannya mikroba memetabolisme karbohidrat, senyawa protein dan senyawa nitrogen non protein (NNP). Karbohidrat meliputi polisakarida, trisakarida, disakarida, monosakarida, gula. Protein meliputi protein dan peptide, senyawa NNP meliputi asam amino, urea, kreatin, trimetyl amin. Lipida meliputi trigliserida, asam lemak, sterol setiap mikroba mempunyai

kemampuan yang berbeda dalam memetabolisme setiap senyawa gizi. Mis bakteri A menggunakan laktosa sebagai sumber karbon, atau casein sebagai sumber nitrogen.

2. Senyawa gizi yang sama dapat digunakan oleh mikroba yang berbeda melalui jalur metabolisme yang berbeda untuk menghasilkan produk akhir yang berbeda juga. Misalnya Glukosa dimetabolisme oleh *Micrococcus* menghasilkan CO₂ dan H₂O, tetapi dimetabolisme oleh *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan asam laktat. *Saccharomyces cerevisiae* memetabolisme glukosa dalam kondisi aerobik menghasilkan CO₂ dan H₂O tetapi pada kondisi anaerobik menghasilkan alkohol dan CO₂.

3. Metabolisme senyawa gizi dalam makanan oleh mikrobia dapat mengubah kualitas dan penerimaan. Produksi bau dihasilkan oleh produk akhir yang volatile. Warna dihasilkan oleh produksi zat warna atau oksidasi senyawa warna alami, mis oksidasi warna merah daging myoglobin. Tekstur disebabkan oleh pemecahan pektin oleh enzim pektinase sayuran, pelunakan daging oleh proteinase daging. Penimbunan gas oleh adanya produksi CO₂, H₂ atau H₂S₂. Pembentukan lendir oleh produksi dekstran atau kumpulan bakteri dlm jumlah banyak. Pembentukan senyawa eksudat misalnya pada pelunakan daging. Produksi asam organik oleh mikroba menyebabkan pH makanan turun dan menurunkan kemampuan makanan mengikat air.

4. Preferensi dalam utilisasi senyawa gizi oleh mikroorganisme

Mikroba akan menggunakan karbohidrat pertama kali kemudian senyawa NNP, senyawa protein, dan terakhir lipida. Tergantung apakah mikroba mempunyai kemampuan untuk memetabolisme karbohidrat. Senyawa dengan berat molekul kecil dimetabolisme lebih dahulu dibanding senyawa dengan berat molekul lebih besar (polimer). Khamir yang tumbuh dalam jus buah yang mengandung fruktosa, glukosa dan sukrosa dalam jumlah besar akan dimetabolisme dahulu dan menghasilkan CO₂, H₂O (aerobik) atau alkohol (anaerobik). *Pseudomonas* yang tumbuh dalam daging yang mengandung glukosa terbatas maka kemudian akan menggunakan asam amino bebas dan senyawa NNP. Selanjutnya akan memproduksi enzim ekstraseluler proteinase untuk merombak

protein daging menjadi peptida dan asam amino untuk kemudian dimetabolisme. Kemudian lipase untuk merombak lipida daging menjadi asam lemak dan menggunakan asam lemak untuk pertumbuhannya. Pada susu yang mengandung karbohidrat laktosa dan protein, maka mikroba yang mampu merombak laktosa akan merombak laktosa menjadi asam dan gas (*Lactobacillus*), tetapi mikroba yang tidak mampu merombak laktosa akan menggunakan NNP dan senyawa protein (*Pseudomonas*). Pada daging yang disuplementasi dengan sukrosa maka bakteri asam laktat akan merombak karbohidrat menghasilkan asam, dan asam ini dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang akan merombak senyawa protein. Hal ini disebut *protein sparing effect*.

3. RINGKASAN

Faktor-faktor intrinsik, ekstrinsik, yang perlu dipertimbangkan ketika menentukan apakah suatu makanan atau kategori makanan memerlukan kontrol terhadap waktu / suhu selama penyimpanan, distribusi, penjualan dan penanganan di ritel dan di layanan makanan (pusat layanan makanan/food court) untuk tujuan memastikan perlindungan konsumen.

Persyaratan tumbuh suatu mikroorganisme dikelompokkan dalam dua faktor yaitu faktor intrinsik, dan faktor ekstrinsik. Ada pula yang menambahkan faktor implicit disamping ke dua faktor tumbuh tersebut. Faktor instrinsik yaitu parameter faktor yang ada terdapat di dalam makanan itu sendiri atau dalam substrat itu sendiri yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Faktor instrinsik ada 6 parameter yaitu meliputi kandungan nutrisi, pH, potensi oksidasi-reduksi, aw, inhibitor alami dan struktur fisik atau struktur biologi. Faktor ekstrinsik yaitu parameter yang dapat dimanipulasi, dibuat atau dikondisikan dan tidak ada terdapat di dalam makanan atau substrat itu sendiri. Faktor ekstrinsik meliputi suhu, kelembaban udara (Rh), dan atmosfer penyimpanan.

Selain enam parameter dalam faktor intrinsik, terdapat juga faktor mikroflora kompetitif, pertumbuhan mikroba dalam lingkungan, efek pada penghambatan pertumbuhan. Mikroflora kompetitif mempengaruhi pertumbuhan mikroba karena setiap individu

mempunyai laju pertumbuhan yang berbeda dan memiliki atribut biologis yang berpengaruh pada kemampuannya untuk berkompetisi terhadap nutrisi di dalam suatu substrat. Pertumbuhan mikroba dengan laju pertumbuhan spesifik, panjang fase lag, waktu generasi, dan akumulasi produk metabolisme dapat membatasi pertumbuhan spesies tertentu. Kompetisi mikroba dalam sistem pangan seperti proses antagonis mencakup persaingan untuk nutrisi, persaingan untuk tempat perlekatan /adhesi (ruang), perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan, dan kombinasi dari faktor-faktor tersebut. Efek pada penghambatan pertumbuhan dijelaskan melalui mekanisme stimulasi seperti produk metabolit dari satu organisme dapat diserap dan dimanfaatkan oleh organisme lain, perubahan pH dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme tertentu, perubahan E_h atau a_w dalam makanan bisa memengaruhi simbiosis, dan terdapat beberapa asosiasi di mana pertumbuhan maksimum dan aktivitas metabolisme normal tidak berkembang kecuali kedua organisme harus ada/hadir.

Faktor ekstrinsik yaitu beberapa faktor yang disebabkan oleh lingkungan tempat pertumbuhan mikroba. Faktor ekstrinsik dapat dikendalikan atau diubah oleh manusia sesuai dengan yang diperlukan. Faktor ekstrinsik meliputi: suhu, waktu, kelembaban udara (R_h), keberadaan gas, jenis kemasan, kondisi penyimpanan, tahan pengolahan, dan faktor lain seperti metabolisme nutrisi oleh mikroba serta preferensi dalam utilisasi senyawa nutrisi oleh mikroba..

LATIHAN

Pilihlah salah satu jawaban yang paling tepat.

1. Faktor intrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba meliputi semua di bawah ini kecuali:
 - a. nutrisi, pH.
 - b. aw dan struktur biologi.
 - c. oksidasi reduksi dan inhibitor alami.
 - d. suhu.
2. Sedangkan factor ekstrinsik meliputi di bawah ini kecuali:
 - a. suhu.
 - b. kelembaban udara.
 - c. Pengemasan.
 - d. struktur biologi.
3. Bakteri Gram positif lebih susah dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya dibanding gram negative karena beberapa hal di bawah ini kecuali:
 - a. bakteri Gram + tidak dapat mensintesis nutrisi tertentu yang diperlukan untuk pertumbuhannya.
 - b. Gram + *S.aureus* membutuhkan asam amino tiamin dan asam nikotinat untuk pertumbuhannya.
 - c. Sehingga buah dan sayuran dengan kandungan vitamin B sangat kecil tidak efektif mendukung pertumbuhan bakteri Gram +.
 - d. Bakteri Gram - juga tidak mudah memperoleh kebutuhan nutrisinya.
4. Mikroorganisme memiliki pH optimum, maksimum dan minimum untuk pertumbuhan dan mempertahankan pertumbuhannya. (Benar atau Salah).
5. Aw dalam makanan dapat dimanipulasi dengan sejumlah cara untuk mencegah pertumbuhan mikroba. (Benar atau salah).

6. Mikroba yang bersifat aerob, anaerob, mikroaerofil dan aerob fakultatif berkaitan dengan sifat potensi oksidasi reduksi substrat. (Benar atau salah).
7. Senyawa antimikroba dalam makanan dapat berasal dari berbagai proses di bawah ini kecuali:
 - a. terdapat secara alami.
 - b. terdapat sebagai hasil fermentasi.
 - c. sebagai produk hasil pengolahan.
 - d. produk hewani tidak mengandung senyawa antimikroba secara alami.
8. Struktur biologis sangat penting dalam mencegah masuknya mikroba ke dalam produk makanan, namun proses pengolahan seperti pemanasan, perubahan pH, aw dapat berpotensi merusak fungsi struktur biologi tersebut. (Benar atau salah).
9. Kompetisi pertumbuhan mikroba dalam system pangan meliputi:
 - a. Persaingan nutrisi.
 - b. persaingan tempat perlekatan/adhesiruan.
 - c. perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan.
 - d. kombinasi dari factor factor a dan b.
10. Mekanisme stimulasi pertumbuhan mikroorganisme dalam makanan antara lain meliputi:
 - a. produk metabolit dari satu organisme dapat diserap dan dimanfaatkan oleh organisme lain.
 - b. perubahan pH dapat meningkatkan pertumbuhan mikroba tertentu.
 - c. perubahan aw dalam makanan dapat mempengaruhi simbiosis mikroba.
 - d. salah semua.

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay, et al., 2005. Modern Food Microbiology.

Daniel Y.C.Fung dan Susan J. Goetsch, 1991. Syllabus for Food Microbiology. Department of Animal Science and Industry, Kansas State University, USA

Norman G. Marriott dan Robert B. Gravani. 2006. Principle of Food Sanitation

Kunci Jawaban

1. d.

2. d.

3. d.

4. Benar.

5. Benar.

6. Benar.

7. d.

8. Benar.

9. d.

10. d.

BAB III

METODE ANALISIS MIKROBIOLOGI PANGAN

Capaian pembelajaran: mampu memahami dan menggunakan teknik analisis mikroba sesuai dengan yang diperlukan.

1. PENDAHULUAN

Bakteri, kapang, khamir, parasit dan virus di dalam makanan dapat dideteksi semuanya. Parasit dan virus tidak ber proliferasi di dalam makanan namun bisa bertahan hidup di dalamnya. Bakteri, kapang dan khamir dapat berkembang biak dalam makanan. Pembatasan jumlah mikroba dalam makanan dapat memperpanjang umur simpan makanan, dan mengurangi resiko berkembang biaknya bakteri pembawa penyakit yang dibawa makanan, serta mengurangi bahaya pembentukan toksin pada dosis tertentu. Teknik dan metode yang digunakan dalam pemanenan makanan, prosesing dan pengemasan dapat membatasi atau mengontrol kontaminasi mikroba dalam makanan. Kontrol kontaminasi baik pada saat pre harvest dan post harvest sangat penting dilakukan dalam pemenuhan persyaratan keamanan pangan dan higienitas makanan. Makanan yang diproduksi dan dijual dalam volume besar yang diproduksi secara tradisional sebagai akibat langsung dari pertumbuhan mikroba adalah daging fermentasi (sosis), ikan fermentasi, fermentasi produk susu (keju keras, yoghurt, krim asam,

kefir, koumiss, butter cultured, dadih), acar sayuran (zaitun, asinan kubis), roti penghuni pertama, kecap, pasta udang, saus ikan, cuka dan minuman beralkohol (anggur, wiski), tempe. Dalam Bab ini dibahas teknik penghitungan mikroorganisme dalam makanan.

2. PENYAJIAN

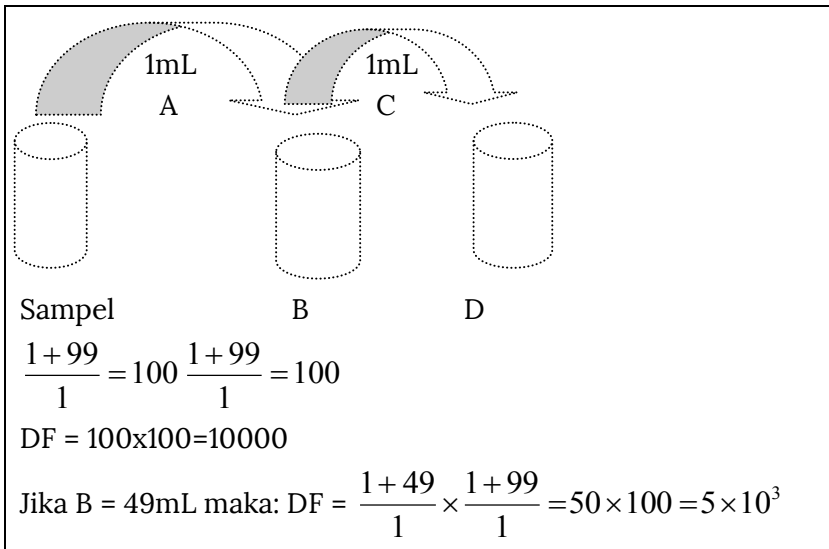
1. Kuantifikasi (penghitungan) mikroorganisme dalam pangan.

- a. Viable cell count (Jumlah sel yang layak dihitung) atau Metode hitungan cawan yaitu menghitung jumlah mikroba yang hidup. Prinsipnya adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel mikroba tersebut berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata. Keuntungan metode ini adalah hanya sel mikroba yang hidup yang dihitung, dapat menghitung beberapa jenis mikroba sekaligus, dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba. Namun metode ini memiliki juga kelemahan yaitu hasil hitungan tidak menunjukkan jumlah sel mikroba sebenarnya, medium dan kondisi yang berbeda dapat menghasilkan nilai berbeda, mikroba yang ditumbuhkan harus dapat membentuk koloni tidak menyebar, memerlukan persiapan dan waktu inkubasi.

Untuk menghitung jumlah mikroba dalam pangan diperlukan pengukuran sampel yang berdasarkan satuan pengukuran yaitu pengukuran sample berdasarkan volume, berdasarkan berat, dan berdasarkan area/luas. Dalam penghitungan jumlah mikroba diperlukan proses pengenceran sample, dan untuk kegiatan ini diperlukan peralatan utama yaitu pipet dan jarum Ose. Pengenceran dilakukan jika: (1) jumlah mikroba dalam bahan pangan diperkirakan lebih besar dari ($>$) 300 sel per Gram, mL, atau cm^2 ; (2) jumlah mikroba yang dapat dihitung adalah antara 30 hingga 300 koloni; (3) pengenceran dilakukan secara decimal misalnya 1:10:100:1000 dan seterusnya; (4) pengambilan sampel dilakukan secara aseptik setelah sampel dihomogenkan kurang lebih 25 kali putaran; (5) contoh sampel diambil sebanyak 0,1 atau 1,0 mL; (6) larutan untuk pengenceran yaitu phosphate buffer atau garam fisiologis

0,85%. Faktor Pengenceran (dilution factor) dalam perhitungan jumlah mikroba adalah

$$DF = \frac{A+B}{A} \times \frac{C+D}{C} \times \frac{E+F}{E} \times \dots \text{dst}$$



Pentingnya memperoleh jumlah sel yang layak di dalam produk pangan maupun lingkungan adalah merupakan kemandirian dalam bekerja. Banyak mahasiswa belum mempunyai konsep yang jelas mengenai penghitungan jumlah sel mikroba yang layak dalam produk. Contoh contoh perhitungan jumlah mikroba yang diberikan di bawah ini dapat membantu mahasiswa. Dalam suatu perhitungan jumlah mikroba layak dalam produk beberapa kuni dibawah ini perlu difahami, yaitu: (1) hitung jumlah koloni setiap cawan petri. Pastikan bahwa hanya menghitung cawan yang mengandung koloni 30 hingga 300 koloni. Hitung rata rata jika terdapat lebih dari satu cawan yang dihitung. Jika tidak ada satupun cawan yang mengandung jumlah koloni dalam kisaran tersebut, maka kemungkinan perlu untuk mengulangi kembali prosedur penghitungan mikroba. (2) pastikan mengetahui

bahwa koloni yang dihitung berasal dari berapa volume sampel yang diinokulasikan ke dalam cawan petri (1 mL, 0,1 mL, 0,5 mL, atau 0,01 mL). Misalnya:

$$55 \text{ CFU per mL sample} = 55 \text{ CFU/mL,}$$

$$55 \text{ CFU per 0,5 sample} = 110 \text{ CFU/mL,}$$

$$55 \text{ CFU per 10mL sample} = 5,5 \text{ CFU/mL,}$$

$$55 \text{ CFU per 1,5 mL sample} = 37 \text{ CFU/mL.}$$

(3) Selanjutnya menentukan faktor pengenceran (*Dilution Factor*=DF) yang dilakukan terhadap sample yang dihitung jumlah mikroianya, berapapun banyaknya volume sample yang diinokulasikan ke dalam cawan petri. Perhatikan contoh berikut ini:

Sampel sebanyak Volume “A” diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer sebanyak volume “B”, maka DF nya =

$$\frac{A + B}{A}.$$

Misalnya: 1 mL sampel ke dalam 99 mL larutan pengencer maka DF =

$$\frac{1 + 99}{1} = 100$$

0,3 mL sample ke dalam 4,5 mL larutan pengencer, maka DF

$$= \frac{0,3 + 4,5}{0,3} = 16$$

1,5 mL sample ke dalam 0,9 mL larutan pengencer, maka DF

$$= \frac{1,5 + 0,9}{1,5} = 1,6$$

5 gram daging dicampurkan ke dalam 75 mL air, maka DF =

$$\frac{5 + 75}{5} = 16$$

(4) Jika terdapat lebih dari satu seri pengenceran maka total DF adalah pengalian dari DF setiap tahap pengenceran. Misalnya:

1 mL sample diencerkan ke dalam 99 mL larutan, maka DF A =

0,5 mL sample ke dalam 8,3 mL larutan, maka DF B=

1,5 mL sample ke dalam 3,5 mL larutan, maka DF C=

0,5 mL sample ke dalam 9,2 mL larutan, maka DF D=

0,8 mL sample ke dalam 999,1 mL larutan, maka DF E=

Total DF = DF A × B × C × D × E

$$= \frac{1+99}{1} \times \frac{0,5+8,3}{0,5} \times \frac{1,5+3,5}{1,5} \times \frac{0,5+9,2}{0,5} \times \frac{0,8+999,1}{0,8}$$

$$100 \times 17,6 \times 3,33 \times 19,4 \times 1249,9 = 142113630 = 1,4 \times 10^8$$

(5) Setelah menemukan organisme/mL dan total DF, selanjutnya mengalikan ke dua angka untuk memperoleh hasilnya.

Contoh latihan penghitungan jumlah mikroba dalam produk.

1. Encerkan 1 mL ke dalam 99 mL larutan, ambil 1 mL inokulasikan ke dalam cawan petri. Setelah inkubasi diperoleh 77 koloni dalam cawan petri. Hitung jumlah mikroba per mL. Jawab $7,7 \times 10^6$ CFU/mL.

2. Encerkan 1 mL ke dalam 99 mL larutan, kemudian encerkan lagi 0,1 mL ke dalam 99,9 mL. Inokulasikan 2 mL ke dalam cawan petri dan setelah inkubasi diperoleh 65 koloni. Berapa jumlah total mikroba? Jawab: $\left(\frac{1+99}{1} \times \frac{0,1+99,9}{0,1} \right) \times 1/2 \times 65 = 3,3 \times 10^6$ CFU/mL.

3. Letakan 4 gram daging ke dalam 100 mL larutan buffer kemudian di blender selama 3 menit. Encerkan 0,5 mL ke dalam 76,7 mL air steril. Kemudian encerkan lagi 2,5 mL ke dalam 0,3 mL air.

Inokulasikan sebanyak 0,005 mL dan setelah inkubasi selama 48jam diperoleh 48 koloni. Hitung jumlah mikroba dalam sampel daging.

Jawab:

=

$$48 \times \left(\frac{4+100}{4} \times \frac{0,5+76,7}{0,5} \times \frac{2,5+0,3}{2,5} \right) \div 0,005 = 48 \times (26 \times 154,4 \times 1,12) \div 0,005$$

$$48 \times 4496,128 / 0,005 = 215814,144 / 0,005 = 4,3 \times 10^7 \text{ CFU / mL}$$

4. Prosedur penghitungan jumlah mikroba dalam konsentrasi sample produk pangan.

Contoh: 1. Filter 1000 mL larutan dan memperoleh 200 koloni.

Berapa jumlah mikroba.

Jawab: $200/1000 \text{ CFU/mL} = 0,2 \text{ CFU/mL}$.

2. Filter 1000 mL dan resuspen dalam 10 mL kemudian inokulasikan 2 mL ke dalam cawan petri. Setelah inkubasi diperoleh 65 organisme. Berapa jumlah mikroba?

Jawab:

$$= \left(\frac{10}{1000} \times 65 \right) \div 2 = 0,325 = 0,33 \text{CFU / mL}$$
$$\text{Faktor konsentrasi} = \frac{\text{konsentrasi volume}}{\text{original volume}}$$

3. Volume air X mL. Evaporasikan 90% dari cairan dan diperoleh 45 mL. Inokulasikan 0,1 mL dan setelah inkubasi diperoleh 78 koloni. Berapa jumlah mikroba dalam cairan.

Jawab: 78 CFU/mL.

2. Standar Perhitungan Mikroba dalam Cawan Petri (Standard Plate Count/SPC).

1. Cawan yang dipilih dan dihitung yang mengandung koloni 30 hingga 300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Rantai koloni sebagai garis tebal dihitung satu koloni.
4. Data yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka ke satu di depan koma dan angka ke dua di belakang koma.
5. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan jumlah koloni dibawah 30, maka hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung.

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
16	1	0

Jumlah mikroba = $1,6 \times 10^3$.

6. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan jumlah koloni di atas 300, maka hanya jumlah koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung.

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
TNTC	325	355
TNTC	TNTC	20

Jumlah mikroba = $3,6 \times 10^6$

7. Jika cawan dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300 dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari ke dua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, maka tentukan rata ratanya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2 yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.

Jumlah koloni

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	rata rata	SPC
103	<u>41</u>	20	$2,6 \times 10^4$	
195	<u>100</u>	21	Jumlah yang terkecil $4,1 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$

Atau hitung semua cawan yang memenuhi persyaratan SPC kemudian rata rata kan. Maka: rata rata dari 149×10^2 dan $70,5 \times 10^3$ adalah $4,3 \times 10^4$

8. Jika dilakukan duplo setiap pengenceran maka data diambil dari rata rata ke dua cawan yang dihitung.

Jumlah koloni

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC
115	16	1	Maka jumlah mikroba = $1,2 \times 10^4$
118	17	0	

3. Cara perhitungan total mikroba.

1. Total Mikroba adalah prinsip hitungan cawan untuk semua jumlah mikroba dalam sampel menggunakan media Plate Count Agar (PCA). Nutrisi dasar media PCA adalah 0,5% tripton, 0,25% ekstrak khamir, 0,1% glukosa.

2. Total bakteri adalah jumlah total bakteri aerobik maupun fakultatif anaerobik menggunakan medium Nutrient Agar (NA). Nutrisi dasar NA adalah 0,3% ekstrak daging sapi, 0,5% pepton, tidak mengandung karbohidrat. Media ini baik untuk pertumbuhan bakteri namun kurang cocok untuk khamir dan kapang. Penambahan biphenyl ke dalam media steril untuk menghambat pertumbuhan kapang. Penambahan cycloheximide 0,03 - 0,05 mg/L ke dalam media steril untuk menghambat pertumbuhan khamir terutama *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Total khamir dan kapang adalah jumlah total khamir dan kapang menggunakan media Potatoe Dextrose Agar (PDA). PDA mengandung sumber karbohidrat yang terdiri dari 20% ekstrak kentang, 2% glukosa. Media ini baik untuk pertumbuhan khamir dan kapang. Jika di dalam sample diperkirakan mengandung bakteri dalam jumlah tinggi maka pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan penambahan asam tartarat 10% steril ke dalam PDA setelah sterilisasi. Media Acidified PDA yaitu dengan menurunkan pH < 4,0 untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini karena khamir dan kapang tergolong dalam mikroba yang toleran terhadap keasaman medium sehingga mudah memisahkan bakteri. Penambahan antibiotic oxytetracyclin 0,05% dan chloramphenicol 0,05% ke dalam media setelah sterilisasi untuk mematikan bakteri. Khamir dan kapang dapat tumbuh di dalam media agar PDA, dan pertumbuhan kapang lebih cepat dibanding khamir. Untuk tujuan isolasi khamir dapat menambahkan senyawa diphenyl 100 ppm atau 0,01% untuk mencegah pertumbuhan kapang.

4. Total jenis bakteri tertentu menggunakan media spesifik. Misalnya jumlah total Bakteri Asam Laktat (BAL) menggunakan media deMan Rogosa Sharpie (MRS) dan ditambahkan CaCO_3 0,75% untuk menunjukkan spesifikasi koloni BAL dari bakteri asam laktat yang bias tumbuh dalam media MRS agar. Koloni darikelompok BAL

akan menunjukkan areabening disekitarnya karena reaksi asamorganik yang diproduksi BAL dengan CaCO_3 pada media MRS Agar.

4. Perhitungan dengan Most Probable Number (MPN)

Metode MPN bertujuan untuk menghitung jumlah mikroba *Eschechia coli* dalam sampel cair misalnya susu, air minum. Dalam melakukan metode ini menggunakan medium cair dalam tabung reaksi misalnya Lactose broth. Perhitungan jumlah *E.coli* dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif yang ditandai dengan timbulnya kekeruhan pada tabung atau dihasilkannya gas dalam tabung Durham. Hal ini karena *E.coli* memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan gas yang ditangkap dalam tabung Durham. Setiap pengenceran menggunakan tiga atau lima seri tabung reaksi. Nilai MPN dilihat pada Tabel MPN.

5. Penghitungan mikroba secara langsung dan tidak langsung.

Perhitungan secara langsung yaitu menghitung jumlah mikroba baik yang hidup maupun yang matimenggunakan mikroskop, misalnya jumlah sel yang terdapat dalam preparasi gelas preparat, jumlah mikroba yang terdapat pada gelas hemacytometer. Penghitungan jumlah mikroba secara tidak langsung dapat dilakukan berdasarkan kekeruhan (turbidity), berat kering, kandungan nitrogen, aktivitas enzimatik, produksi gas, dan kandungan DNA. Sel mikroba yang ditumbuhkan dalam media cair (broth) menunjukkan pertumbuhan yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Kekeruhan ini dapat dihitung menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 mm. Meningkatnya berat kering sel atau massa sel mikroba menunjukkan terjadinya pertumbuhan sel mikroba. Aktivitas enzimatik sel mikroba misalnya enzim katalase pada bakteri katalase positif menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba.

Metode penanaman mikroba (plating) dapat dilakukan dengan:

1. Metode tuang (pour plate)
2. Metode permukaan (surface plating) atau tebar (spread plating)

6. Organisme injuri metabolik (metabolically injured organisms)

Ketika mikroorganisme dipapar pada kondisi lingkungan ekstrim seperti panas sublethal dan freezing, maka organisme tersebut mengalami injuri metabolisme (metabolic injury), sehingga mengakibatkan ketidak mampuan untuk membentuk koloni pada media selektif dimana sel organisme normal/tidak injuri mampu toleransi terhadap kondisi ekstrim tersebut. Kultur yang telah mengalami injuri metabolik dapat ditentukan dengan plating secara terpisah pada media non selektif dan media selektif dan dihitung koloni yang berkembang setelah inkubasi pada kondisi yang sesuai. Koloni yang berkembang pada media non selektif adalah sebagai sel yang injuri maupun sel yang tidak injuri, sedangkan hanya sel yang tidak injuri berkembang pada media selektif. Selisih perbedaan jumlah koloni antara kedua media (non selektif dan selektif) adalah jumlah/populasi sel injuri yang sebenarnya pada populasi awal. Agar sel injuri dapat memperbaiki selnya atau agar sel injuri rekoverti maka sel diletakkan dalam nutrient broth (medium rekoverti) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Mikroorganisme pembawa penyakit yang mengalami injuri dapat disebabkan oleh perlakuan sublethal heat (panas yang mematikan), freezing, juga freeze drying, pengeringan, irradiasi, aerosolisasi, pewarnaan, sodium azide, garam, heavy metal, antibiotic, minyak esensial, dan bahan kimia lain seperti ethylenediaminetetraacetic (EDTA) dan agensia sanitasi.

7. Uji Sub Lethal injuri

Sublethal injuri test

E. coli yang mengalami injuri sub lethal oleh karena terkena proses pengolahan ditentukan dengan membandingkan jumlah *E. coli* yang tumbuh pada media TSA (Daigger, Vernon Hill, IL, USA) dengan TSA yang disuplemen dengan NaCl (Mallimckrodt Baker, Inc., Philipsburg, NJ, USA). Sebanyak 1,0 mL bagian sample yang telah terkena proses pengolahan di tuangkan ke dalam TSA dan TSA yang ditambah 3 atau 4% NaCl (TSA3 atau TSA4). Persen sublethal injuri dihitung menggunakan formula sebagai berikut:

$$\text{Sublethal injury (\%)} = \left(1 - \frac{\text{colonies on TSA plus NaCl}}{\text{colonies on TSA}} \right) \times 100$$

Konsentrasi NaCl optimal yang digunakan untuk mendeteksi persen sublethalinjuri yang disebabkan oleh suatu proses pengolahan ditentukan berdasarkan pada konsentrasi maksimum NaCl yang tidak mempengaruhi pertumbuhan sel sehat yang tidak terkena proses pengolahan (Ukuku et al., 2008).

8. Recoveri/repair

Sel injuri metabolic dapat recover atau sembuh paling tidak terjadi pada *S. aureus* dalam media tanpa pertumbuhan dan pada suhu 15°C. Pada keadaan tertentu, proses rekoverti tidak secara instan, namun ditunjukkan bahwa tidak semua coliform yang stress recover dalam proses yang sama, tetapi proses recoveri bertahap sedemikian rupa. Tidak semua sel dalam satu populasi yang sama mengalami injuri dengan tingkatan yang sama. Perbaikan atau penyembuhan ribosom sel dan membrane adalah sangat penting esensial untuk rekoverti, paling tidak injuri yang diakibatkan oleh sub lethal panas, freezing, pengeringan, dan iradiasi.

9. Viable tapi tidak culturabel (viable but non culturable/VBNC)

Pada kondisi tertentu dan pada lingkungan tertentu, hasil penghitungan standard plate menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni atau jumlah sel lebih rendah dari jumlah populasi sebenarnya. Fenomena ini tampak seperti kejadian sel injuri, namun viable tapi non culturabel adalah kondisi atau fenomena yang berbeda dengan sel injuri. Misalnya, sel injuri metabolic akan sembuh atau rekoverti ketika sel diletakkan dalam media non selektif yang tidak mengandung inhibitor, namun sel viable but not culturable (VBNC) tidak demikian, tidak akan berkembang jika ditumbuhkan. Misalnya, sel dalam kondisi VBNC dipelihara dalam suhu 4°C selama >4 bulan. Pada saat sel ditumbuhkan dengan standar plate maka jumlah selnya yang berkembang sangat rendah, namun pada saat sel VBNC dihitung dengan metode secara langsung (DVC direct viable count)

menggunakan pewarnaan (dyes) acridine orange maka ditemukan bahwa jumlah sel lebih tinggi dari log 7. Sel dalam kondisi VBNC berbentuk cocci.

10. Uji Salmonella

Sebanyak 25g sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam stomacher bag, ke dalam sromacher bag dituangkan 225mL Lactose broth steril dan dihancurkan selama 2 menit. Sampel yang telah dihancurkan dipindahkan ke dalam Erlenmeyer dan dibiarkan 60°C, 5 min pada suhu ruang dalam keadaan tertutup, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. selanjutnya sampel diambil dipipet sebanyak 1mL dan dituangkan ke dalam 10 mL medium enrichment SC broth dan dokocok. Tabung kemudian diinkubasi pada 35°C selama 24 2 jam. Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan warna media. Tabung SC broth yang positif dikocok kemudian diambil sato ose dan digoreskan dengan cara gores kwadran pada media Bismuth Sulfite (S) agar, Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, dan Hektoen Entric (HE) agar. Inkubasi dilakukan pada suhu 35°Cselama 24jam. Koloni tipikal pada media memiliki cirri cirri seperti tertulis pada Tabel di bawah ini.

Media Koloni tipikal Salmonella

Media	Koloni tipikal Salmonella
HE	Warna hijau kebiruan, dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa akan tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilat ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
XLD	Warna merah muda dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa mungkin tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
BS	Warna koloni coklat, abu abu hitam, kadang tampak berwarna metalik. Sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat pada awalnya dan akan menjadi hitam dengan bertambahnya waktu inkubasi, yang disebut <i>hallo effect</i> .

11. Uji Listeria

Sebanak 25g sampel dimasukkan ke dalam 225mL medium enrichment half Frazer broth (mengandung ammonium iron III, Nalidic acid, dan Acriflavin hidroklorida) kemudian dihancurkan dengan stomacher. Sampel yang telah dihancurkan dipindahkan ke dalam Erlenmeyer steril dan diinkubasi 48jam pada 30°C. Sampel yang diinkubasi adalah positif jika berwarna hitam, diambil satu ose dan dilakukan goresan kwadran pada PALCAM agar yang mengandung selektif suplemen Polymixin B, Acriflavin hidroklorida dan Ceftazidime dan diinkubasi pada 35°C selama 24-48 jam. Hasil diamati setelah 24 dan 48jam. Koloni Listeria yang terdapat pada PALCAM agar berdiameter 1,5-2 mm, warna hijau pudar ke abu-abuan dengan black haloes. Kultur yang lebih tua akan berwarna hijau dan cekung ditengahnya. Ciri-ciri koloni pada PALCAM agar dapat dilihat pada tabel berikut.

Media	Koloni tipikal Listeria
PALCAM agar	Diameter 1,5-2 mm, warna hijau pudar ke abu-abuan dengan black haloes. Kultur yang lebih tua akan berwarna hijau dan cekung ditengahnya.
SAYE agar	Berwarna biru ke abu-abuan.

Jumlah mikroba pada beberapa jenis sayur.

Sayuran	Jumlah mikroba CFU/g di tingkat		
	Petani	Pasar	BMR 1)
Kubis	1,4 - 3,1 x 10 ⁷	4,3 - 4,6 x 10 ⁷	0 - 10 ³
Tomat	5,4 x 10 ⁴ - 1,7x10 ⁶	3,3x10 ⁴ - 2,5x10 ⁷	0 - 10 ³
Wortel	1,8x10 ⁵ -4,2x10 ⁶	6,1x10 ⁵ - 5,7x10 ⁷	0 - 10 ³
Cabai merah	5,7x10 ⁵	5,4x10 ⁵ - 2,2x10 ⁷	0 - 10 ³
Bawang merah	8,4x10 ⁶ - 7,1x10 ⁷	3,7x10 ⁶ - 4,7x10 ⁷	0 - 10 ³
Selada	3,6x10 ⁴ - 2,8x10 ⁶	2,1x10 ⁶ - 2,1x10 ⁷	0 - 10 ³

12. Uji catalase:

Uji katalase dilakukan mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Kale. Satu isolate yang diduga koloni *Lactobacillus* di goreskan pada gelas preparat dan ditetesi 3% hydrogen peroksida. Tidak adanya produksi gelembung oksigen dalam gelas preparat mengindikasikan bahwa koloni sel adalah katalase negative.

13. Uji Motility Lactobacilli

Uji motilitas mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Ramírez-chavarrín et al. Media Sulfide inodole motility (SIM) digunakan sebagai media uji motilitas. Isolat mikroba diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi media SIM dengan metode stabbing di bagian tengah tabung reaksi. Aktivitas motilitas bakteri diketahui dengan melakukan observasi adanya pertumbuhan menyebar spreading growth di dalam tabung reaksi yang telah diinkubasi.

14. Uji Pertumbuhan Lactobacilli dalam 6,5% NaCl.

Uji pertumbuhan Lacobacilli dalam NaCl 6,5% mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Bhardway et al. Isolat diinokulasikan ke dalam MRS broth yang mengandung NaCl pa konsentrasi 6,5%. Pengamatan dilakukan dengan observasi ada atau tidaknya pertumbuhan lactobacilli.

15. Pembuatan tepung kultur campuran secara kering

Kultur mikroba pada fase awal stasioner dipanen menggunakan sentrifugasi pada rotasi 2000 xg, 5 min, dan sel yang diperoleh dilakukan pencucian sebanyak dua kali dalam larutan glycerol dalam air, pada aw 0,992. Pellet yang diperoleh dicampurkan ke dalam 30 g tepung atau bubuk skim milk dalam sebuah mortar untuk menghasilkan granula dengan diameter dalam kisaran 0,8- 3,2 mms. Campuran kultur dan tepung selanjutnya dikeringkan dalam bed fluidizer (Retch, Germany) dengan lama waktu berdasarkan nilai a_w yang ingin dicapai. Ruang pengeringan dengan suhu 50°C dengan Rh 1%. Setelah pengeringan, sampel tepung kultur disimpan dalam kemasan aluminium sealed dalam kondisi vakum. Hal ini untuk

mencegah rehidrasi. Dengan menggunakan teknik pengeringan diperoleh suatu kultur campuran yang memiliki viabilitas tinggi setelah rehidrasi.

16. Pembuatan kultur starter

Saccharomyces cerevisiae:

Ke dalam Labu Erlenmeyer diinokulasikan satu loop kultur *S. cerevisiae* dan diinkubasi dalam rotary shaker pada kecepatan 250 rpm (New Brunswick Scientific, USA) suhu 25°C selama 48 jam. Satu cairan (1 mL) kultur dipindahkan ke dalam Erlenmeyer yang mengandung media yang sama dan dibiarkan tumbuh hingga awal fase stasioner pada 25°C selama 48 jam, hingga mencapai konsentrasi akhir 1×10^9 sel/ml.

Lactobacillus plantarum:

L. plantarum strain 103151 T cells (Institut Pasteur Collection) ditumbuhkan dalam Petri dish dengan media MRS agar (Biokar Diagnostics, France) dengan suplementasi 20 g/L agar VWR (VWR International). Selanjutnya bacteria ditumbuhkan dalam 250-ml Erlenmeyer yang mengandung 100 mL MRS broth pada suhu 30°C selama 18 jam, tanpa shaking/goyang. Satu mL aliquot (1 mL) kultur dipindahkan ke dalam tabung Erlenmeyer yang mengandung media yang sama dan dibiarkan tumbuh hingga fase awal stationer pada suhu 30°C selama 20 jam, hingga mencapai konsentrasi 1×10^9 sel/mL.

3. RINGKASAN

Teknik penghitungan mikroba meliputi secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung meliputi: 1. Viable cell count (Jumlah sel yang layak dihitung) atau Metode hitungan cawan yaitu menghitung jumlah mikroba yang hidup. Prinsipnya adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel mikroba tersebut berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata. Penghitungan jumlah mikroorganisme dalam makanan harus memenuhi standard perhitungan mikroba dalam cawan petri (standard plate count). 2. Metode MPN untuk menghitung jumlah mikroba *Eschechia coli* dalam sampel cair misalnya susu, air minum. 3. Perhitungan secara langsung yaitu menghitung jumlah mikroba baik yang hidup maupun yang mati menggunakan mikroskop, misalnya jumlah sel yang terdapat dalam preparasi gelas preparat, jumlah mikroba yang terdapat pada gelas hemacytometer. 4. Penghitungan mikroba tertentu meliputi % ase Sublethal injury, Viable tapi tidak culturabel (viable but non culturable/VBNC), Uji Salmonella, Uji Listeria, Uji catalase, Uji Motility Lactobacilli. Penghitungan mikroba secara tidak langsung dapat dilakukan berdasarkan kekeruhan (turbidity), berat kering, kandungan nitrogen, aktivitas enzimatik, produksi gas, dan kandungan DNA.

LATIHAN

1. Mari menuangkan 5 mL jus tomat ke dalam beaker berisi 35 mL nutrient broth steril dan diaduk merata. Menggunakan pipet berukuran 1,1 mL Mari memindahkan secara aseptis 0,1 mL broth jus tomat ke dalam cawan petri, dan juga 1 mL campuran broth ke dalam cawan petri lainnya. Setelah inkubasi selama 48 jam diperoleh 31 koloni dalam cawan petri yang mengandung 0,1 mL broth jus tomat, dan 290 koloni dalam petri yang mengandung 1 mL broth jus tomat. Berapa jumlah mikroba dalam jus tomat.

Jawab:

- A. $2,1 \times 10^3$, B. imposible to tell.
C. $1,1 \times 10^3$, D. $2,4 \times 10^3$, E. $3,0 \times 10^2$.
2. 5 Gram daging ayam dihomogenisasi dalam 305 mL broth daging steril, kemudian dilakukan pengenceran dan setelah inkubasikan diperoleh koloni seperti dalam table berikut:

Pengenceran	Inokulasi mL	Jumlah koloni per cawan
1:10		181
1	300	
0,2	41	
0,1	36	
1:1000	1	1
1	4	

Berapa jumlah mikroba dalam campuran per mL?

Berapa jumlah mikroba dalam daging per gram?

3. Anggap terdapat 7 *E. coli* di dasar tabung reaksi, dan *E. coli* tersebut meningkat dua kali lipat setiap 15 menit. Jika untuk memenuhi tabung reaksi memerlukan waktu 55 menit, berapa lama waktu diperlukan untuk memenuhi setengah dari tabung reaksi tersebut.

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay et al., 2005. Modern Food Microbiology.

Daniel Y.C.Fung and Susan J. Goetsch, 1991. Syllabus for Food Microbiology, Department of Animal Science and Industry, Kansas state University, USA.

BAB IV

MIKROBA SEBAGAI PROBIOTIK

Capaian pembelajaran: mampu menjelaskan fungsi dan peranan mikrobiologi dalam pengolahan pangan.

1. PENDAHULUAN

Beberapa tahun akhir ini terdapat sejumlah besar baik produk makanan baru maupun komponen pangan baru yang mempunyai keuntungan lain yaitu sebagai medical food atau health benefits telah di diedarkan ke pasar dalam upaya menarik minat konsumen. Produk makanan dapat didefinisikan sebagai nutrasetikal, fungsional, probiotik atau sinbiotik dan dianjurkan dikonsumsi untuk memperbaiki kesehatan, mencegah infeksi penyakit atau sebagai suplemen yang mengandung senyawa esensial dalam metabolisme tubuh dan mempunyai sifat terapeutik. Penelitian saat ini berfokus pada penggunaan prebiotik dan probiotik dalam pengembangan makanan fungsional yang disebut "Symbiotic food/Makanan simbiosis", yaitu makanan yang mengandung sel probiotik juga berperan sebagai bahan prebiotik. Konsep pangan fungsional menekankan bahwa makanan tidak hanya penting untuk hidup tetapi juga berperan dalam pencegahan dan pengurangan faktor bahaya beberapa penyakit, dan juga mampu meningkatkan fungsi fisiologi penting tertentu. Pangan fungsional juga

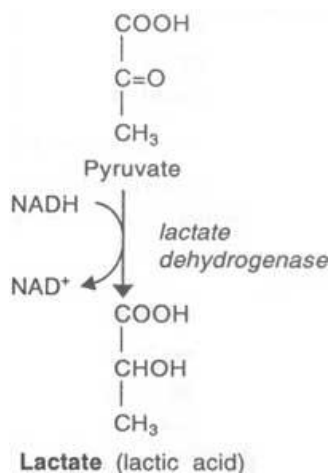
memberikan kecukupan kebutuhan tubuh akan vitamin, lemak, protein, dan karbohidrat. Istilah probiotik digunakan di dalam aplikasi mikroba dalam produk pangan. Istilah bioterapeutik digunakan dalam aplikasi klinis (Kavita et al., 2015). Untuk memisahkan perbedaan antara efek menguntungkan mikroorganisme hidup dari senyawa organik, maka istilah prebiotik digunakan untuk efek kesehatan dari senyawa organik. Probiotik, prebiotik dan sinbiotik merupakan suplemen pangan yang berfungsi kesehatan. Suplemen pangan yang disebut sebagai pangan fungsional telah diketahui dapat mengubah, memodifikasi, dan mengembalikan flora intestinum yang sudah ada sebelumnya. Suplemen pangan juga memudahkan fungsi halus lingkungan intestinum. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan suatu efek menguntungkan pada kesehatan inangnya ketika diberikan dalam jumlah yang memadai, sedangkan prebiotik adalah bahan makanan non-dicerna, yang fungsinya berperan sebagai makanan untuk mikroorganisme probiotik, dan dengan demikian meningkatkan kelangsungan hidup probiotik dan meningkatkan daya implantasi dalam saluran usus inang. Strain probiotik yang umum digunakan meliputi *Bifidobacterium*, *Lactobacilli*, *S. boulardii*, *B. coagulans*. Prebiotik meliputi FOS, GOS, XOS, Inulin; fructans merupakan serat yang umum digunakan yang mana jika digunakan bersamaan dengan probiotik, maka selanjutnya disebut sebagai sinbiotik dan mampu meningkatkan viabilitas probiotik. Disamping bakteri asam laktat yang sudah umum sebagai bakteri probiotik, keberadaan khamir tidak hanya terbatas pada produk pangan terfermentasi. Baru baru ini, khamir digunakan sebagai probiotik seperti genera *Saccharomyces*. Khususnya strain *Saccharomyces boulardii* merupakan satu satunya khamir probiotik komersial yang digunakan sebagai obat manusia (human medicine). Pada Bab ini akan membahas tentang peran bakteri asam laktat dalam fermentasi, potensi probiotik bakteri asam laktat, probiotik khamir, prebiotic dan sinbiotik.

2. PENYAJIAN

1. Bakteri asam laktat dalam fermentasi.

Terdapat dua tipe fermentasi laktat yaitu homolaktik dan heterolaktik.

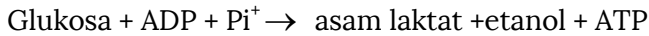
Fermentasi homolaktik. Ketika jalur glikolitik digunakan dalam fermentasi asam laktat, jalur keseluruhan disebut fermentasi homolaktik. Dalam hal ini, piruvat langsung direduksi menjadi asam laktat dengan enzim laktat dehidrogenase seperti pada gambar di bawah ini.



Fermentasi homolactic dilakukan oleh *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* dan berbagai spesies *Lactobacillus*. Bakteri ini secara kolektif disebut bakteri asam laktat sebagai produk utama atau satu-satunya dari fermentasi mereka adalah asam laktat di mana sangat penting dalam industri susu di mana ia digunakan untuk susu asam dan juga untuk produksi berbagai jenis keju. *Streptococci* yang hidup di permukaan gigi menghasilkan asam laktat. *Lactobacilli* terjadi pada saluran pencernaan manusia dan membantu pencernaan susu. *Lactobacillus acidophilus* ditambahkan ke dalam diet susu bagi mereka yang tidak dapat mencerna karbohidrat susu. Jalur fermentasi Homolactic. Produk akhir adalah asam laktat (laktat).

Fermentasi heterolaktik. Kebalikan dari fermentasi homolaktik adalah heretolaktik. *Leuconostoc* menyelenggarakan fermentasi heterolaktik menggunakan jalur fosfoketolase daripada jalur glikolitik yang digunakan oleh bakteri homolaktik. Hal ini karena etanol dan CO₂ juga diproduksi selama fermentasi disamping asam laktat.

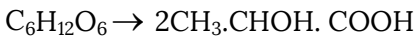
Reaksi fermentasi heterolaktik adalah sebagai berikut:



Fermentasi heterolactic menyebabkan bakteri dapat diisolasi dari tanaman, silase, dan susu. Genus *leuconostoc* digunakan dalam produksi anggur, dalam fermentasi sayuran seperti kol (sauerkraut) dan mentimun (pikel), dan dalam pembuatan buttermilk, butter, dan keju.

Pada fermentasi susu terdapat 7 reaksi yang berlangsung selama fermentasi adalah sebagai berikut.

1. Fermentasi asam laktat (homolaktik)



Glukosa asam laktat

Heterolaktik:

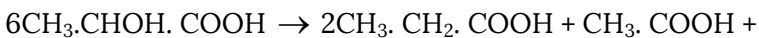


Glukosa asam laktat CO₂ + etanol

2. Fermentasi asam propionate



Glukosa asam laktat



CO₂ + H₂O

Asam laktat asam propionate asam asetat

3. Fermentasi asam sitrat

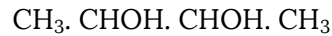
Diasetil



↑ Teroksidasi -2H

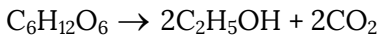


↓ Tereduksi + 2H



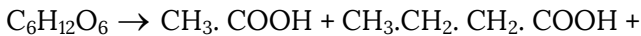
2,3-butilene glikol

4. Fermentasi alcohol

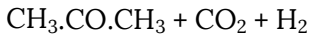
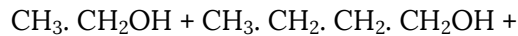


Glukosa etil alcohol

5. Fermentasi asam butirat

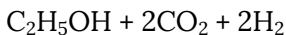


Glukosa asam asetat asam butirat



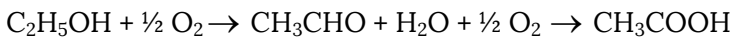
Etil alcohol butyl alcohol aseton

6. Fermentasi gas oleh coliform.



Glukosa asam laktat asam asetat etil alcohol.

7. Pembentukan asam asetat secara oksidasi.



Etanol asset aldehyd asam asetat

Jenis fermentasi susu.

1. Susu tanpa mengandung asam atau disebut susu sweet acidophilus, mengandung 0-0,1 % asam dan dibuat tanpa melalui proses fermentasi, diproduksi dengan menginokulasikan 5×10^6 *Lactobacillus acidophilus*, kemudian simpan dalam suhu dingin dan dikonsumsi pada suhu dingin, berfungsi untuk mengendalikan masalah gastrointestinal.

2. Produk susu asam rendah. Culture butter milk dengan ciri ciri menggunakan substrat susu skim pasturisasi, kemudian diinokulasi dengan *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* dan *Lactobacillus cremoris*, berfungsi sebagai minuman, pengganti sour cream, untuk campuran pan cake. Produk susu asam rendah yang lain yaitu Sour cream, dengan ciri ciri mengandung 18% lemak, menggunakan starter *Strp. Lactis* dan *Strep. Cremoris*.

3. Produk susu asam medium. Susu acidophilus dengan ciri ciri menggunakan substrat susu skim yang dipanaskan dengan tujuan untuk membebaskan peptide, kemudian didinginkan dan dinokulasi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu dingin hingga menghasilkan asam lebih kurang 1,0%. Susu acidophilus bermanfaat untuk mengatasi gangguan gastrointestinal, dan setelah melakukan oprasi. Produk susu asam medium yang lain yaitu yogurt, dengan ciri ciri fermentasi terkontrol, menggunakan *Strep. thermophilus* dan *Lac. bulgaricus* dengan perbandingan 1:1., menggunakan susu pasturisasi, mengandung padatan 2-4%.

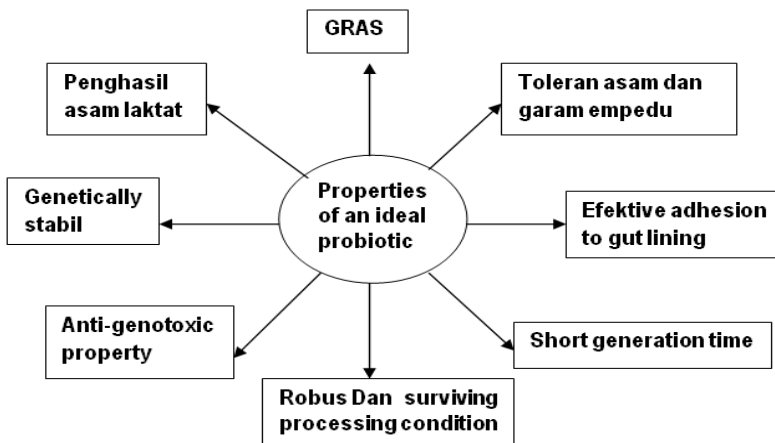
4. Susu medium asam dan mengandung alcohol. Kefir dengan ciri ciri menggunakan starter khamir *Saccharomyces kefir*, dan *Torula*, *L. caucasius*, dan *Leuconostoc*, menggunakan susu kambing. Produk lain yaitu Koumiss dengan ciri ciri menggunakan susu mares, produk bukan berupa padatan, berwarna putih keabu abuan, menggunakan *L. bulagaricus* dan khamir, mengandung asam laktat 0,7-1,8%, alcohol 1-2,5%.

2. Probiotik

Istilah probiotik berasal dari bahasa Greek berarti untuk kehidupan (for life) dan digunakan untuk mendefinisikan organism non pathogen hidup dan manfaat kesehatan yang ditimbulkannya

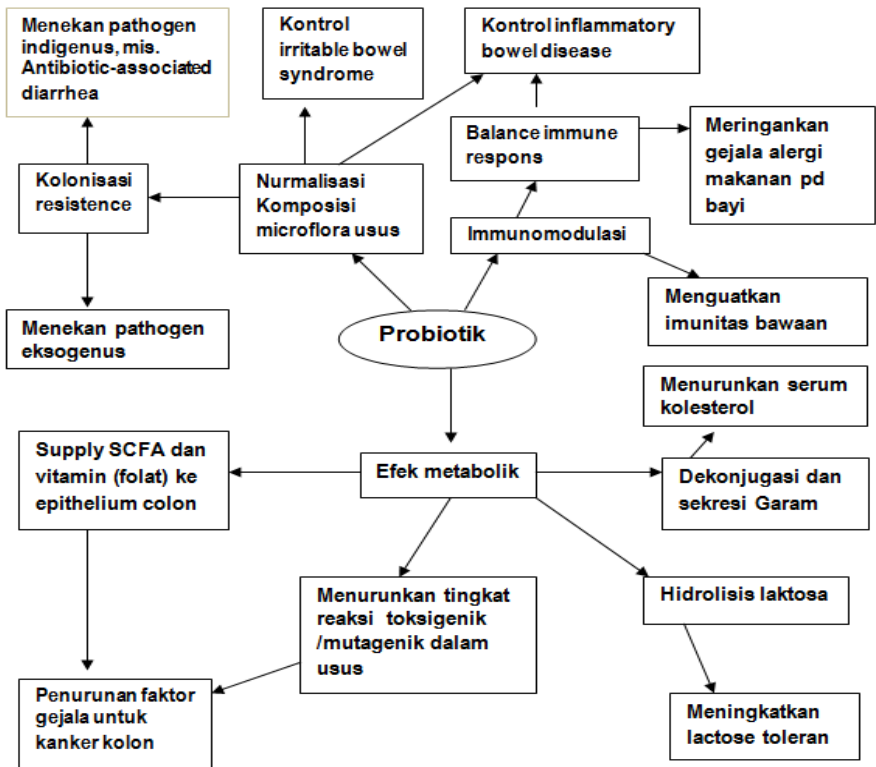
terhadap kesehatan inangnya (Kavita et al., 2015). Istilah probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang berfungsi sebagai pangan atau suplemen farmaceutical yang mempunyai manfaat kesehatan manusia maupun hewan ketika ditelan atau dimasukkan ke dalam saluran pencernaan, yaitu berpengaruh terhadap salah satu dari tiga fungsi pokok/utama dari mikroflora normal intestinum yang meliputi resistance terhadap kolonisasi (colonization resistance), dan berkontribusi terhadap immunomodulasi dan nutrisi. Mikroorganisme hidup yang jika diberikan dalam jumlah yang cukup memberi manfaat kesehatan pada inangnya (WHO, FDA).

FAO dan WHO telah bersama sama membuat pedoman untuk menyusun suatu pendekatan sistematik untuk melakukan evaluasi efektif terhadap probiotik dalam makanan untuk memperkuat klain kesehatan dan manfaat. Beberapa persyaratan suatu probiotik ideal atau organism ideal digambarkan pada Gambar 4.1. Pedoman perlu untuk melakukan kegiatan sebagai berikut: (1) Identifikasi strain, (2) Karakterisasi fungsional strain untuk keamanan dan atribut probiotik, (3) Validasi manfaat kesehatan dalam studi manusia, (4) Jujur, label klaim kemanjuran tidak menyesatkan dan berisi informasi shelf life.



Gambar 4.1. Karakterisasi strain probiotik ideal (Kavita et al., 2015).

Parves et al. (2010) mengemukakan bahwa kebanyakan probiotik tergolong dalam kelompok bakteri penghasil asam laktat yang biasanya dikonsumsi di dalam sediaan pangan yogurt, fermentasi susu atau makanan fermentasi lainnya, dan mempunyai manfaat meliputi: meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, meningkatkan system imun tubuh, meningkatkan sintesis dan bioavailabilitas nutrisi, menurunkan gejala intoleransi laktosa, menurunkan bahaya timbulnya kanker tertentu. Berbagai manfaat kesehatan bagi tubuh dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung mikroorganisme probiotik dirangkum pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Manfaat kesehatan konsumsi probiotik. Parvez et al. (2010).

Manfaat kesehatan probiotik yang paling penting meliputi pencegahan diare, konstipasi, perubahan dalam konjugasi garam empedu, peningkatan aktivitas antibakteri, anti inflamasi. Probiotik juga berkontribusi pada sintesis nutrisi dan peningkatan bio-availabilitas nutrisi. Probiotik juga menunjukkan efek yang melekat/inherent dalam mengurangi gejala alergi, kanker, AID, infeksi saluran pernapasan dan urin. Beberapa mekanisme tubuh yang berkaitan dengan manfaat probiotik meliputi (Kavita et al., 2015): produksi zat penghambat seperti H_2O_2 , bakteriosin, dan asam organik, bloking sisi perlekatan bakteri pathogen pada usus, persaingan nutrisi dengan bakteri pathogen dalam usus, degradasi toksin dan juga bloking reseptor toksin, modulasi respon imunitas/kekebalan tubuh.

Efek imunomodulasi. Bacteria probiotik mempunyai efek imunomodulasi, adjuvant like properties dan aktivitas antiinflamatori dan berpengaruh pada humoral serta cell mediated immunity. Bacteria probiotik diketahui mensekresi faktor faktor yang berperan untuk modulasi respon immune. Misalnya, sekresi faktor dari *L. reuteri* menurunkan NF- κ B dependent gene expression, sehingga menghasilkan penurunan proliferasi sel dan meningkatkan mitogen yang mengaktifasi protein kinase, yaitu proses penting untuk menginduksi apoptosis. Seperti halnya pada fermentasi susu yang terkenal sebagai sumber probiotik. Maka perlu diketahui bahwa *L. helveticus* mampu menghasilkan faktor selama fermentasi susu yang berperan dalam meningkatkan ekspresi calcineurin dan menyebabkan pembentukan sel mast dan sel goblet di dalam saluran usus tikus.

Bioavailabilitas dan Uptake Mineral. Mineral seperti Ca, Mg, Fe, K adalah makronutrient yang diperlukan untuk smooth functioning tubuh. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan absorpsi Ca dengan intake prebiotik terutama fruktan. Studi pada 100 remaja yang diberi fruktan inulin rantai pendek dan rantai panjang 8g/hari menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam absorpsi Ca dan meningkatkan densitas mineral tulang (Abrams et al., 2005).

Obesitas. Menurut artikel ilmiah yang dipublikasi Nature melaporkan bahwa populasi mikrobial dalam usus berbeda pada orang obesitas dan orang kurus, dan bahwa ketika orang obesitas menjadi kurus mikrofloranya menyerupai mikroflora pada orang kurus. Diet mengandung serat tinggi memiliki derajat lemak dan densitas energi lebih rendah, dan bermanfaat untuk menurunkan bahaya obesitas dengan cara mengendalikan rasa kenyang dan kehilangan berat badan.

Bakteri pembentuk spora terutama genus *Bacillus* mendominasi kelompok probiotik. Probiotik tersebut ditambahkan ke dalam makanan, khususnya produk susu terfermentasi, baik sebagai sel tunggal maupun kombinasi. Produk probiotik bisa mengandung satu strain tunggal atau campuran baik dari dua strain atau lebih. Efek probiositas sangat spesifik setiap strain dan tidak dapat di samakan. Strain tunggal mungkin menunjukkan manfaat berbeda ketika digunakan secara individu dan dalam kombinasi. Tabel 4.1 menyajikan ringkasan mikroorganisme probiotik dan manfaatnya bagi kesehatan manusia. Beberapa organisme probiotik yang telah populer meliputi *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *bifidobacteria* and *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*-group, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli* strain Nissle 1917, genus tertentu enterococci, khususnya *Enterococcus faecium* SF68, and khamir *Saccharomyces boulardii*.

Tabel 4.1. Mikroorganisme probiotik dan manfaat kesehatan yang ditimbulkan.

Mikroflora	Reaksi yang ditimbulkan	Referensi
Bifidobacteria species	Mengurangi gejala penyakit enetrokolitis pada bayi baru lahir	Caplan dan Jilling (2000)
Enterococcus faecium	Menurunkan lama penderita penyakit diare akut	Marteau et al. (2001)
Lactobacillus strain	Meningkatkan pencernaan laktosa, menurunkan diare dan gejala intoleransi laktosa. Menghilangkan pathogen. Meningkatkan system imun, sekresi musin dan mencegah penyakit.	Marteau et al. (2001)
Lactobacillus acidophilus	Menurunkan polip, adenoma dan kanker kolon pada hewan percobaan. Mencegah infeksi urogenital yang terinfeksi oleh E.coli, Klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa.	Marteau et al. (2001)
Lactobacillus plantarum	Mengurangi inflamasi bowel, konstipasi, kembung. Efek positif imunitas terhadap HIV+ pada anak-anak.	Marteau et al. (2001)
Lactobacillus rhamnosus	Meningkatkan system imun pada org dewasa.	Tomioka et al. (1992)
Lactobacillus salivarius	Menekan penyebaran Helicobacter pylori dalam jaringan.	Marteau et al. (2001)
Bacteroides spesies	Colitis kronis, gastritis, dan arthritis	Marteau et al. (2001)
Saccharomyces boulardii	Menurunkan gejala diare oleh Clostridium difficile. Memperpendek penyakit gastroenteritis akut.	Marteau et al. (2001)

Sumber Kavita et al. 2015.

3. Prebiotik

Prebiotik adalah serat makanan yang non-digestible dan mempunyai manfaat bagi kesehatan inangnya dengan secara selektif merangsang/ menstimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas beberapa genera mikroorganisme di dalam kolon, umumnya lactobacilli dan bifidobacteria (Kavita et al., 2015). Suatu prebiotik ideal harus (1) resisten terhadap reaksi asam di dalam lambung, garam empedu dan enzim hidrolisa lain di dalam usus, (2) tidak seharusnya diserap di dalam upper GI, (3) mudah terfermentasi oleh mikroflora menguntungkan di dalam usus. FAO dan WHO mendefinisikan prebiotik sebagai kopolimer makanan yang tidak layak yang member manfaat kesehatan pada inang melalui modulasi mikrobiota. Tabel 4.2 menyajikan karakteristik beberapa prebiotik.

Tabel 4.2. Karakteristik prebiotik ideal

Atribut yang diharapkan	Karakteristik oligosakarida
Aktif pada dosis rendah	Selektif dan efektif dimetabolisme oleh Bifidobacterium dan Lactobacillus sp
Efek samping tidak ada	Selektif dan efisien dimetabolisme oleh bakteri menguntungkan tanpa menghasilkan gas.
Bertahan hidup hingga mencapai kolon	Disukai berat molekul besar.
Viskositas bervariasi	Available dalam berat molekul yang berbeda dan linkages.
Acceptable storage dan processing stability	Memiliki 1-6 linkages dan pyranosil sugar ring.
Ability to control microflora modulation	Selektif dimetabolisme oleh spesies mikroba terbatas.
Varying sweetness	Varying monosakarida composition

Sumber Kavita et al. 2015.

Mekanisme efek menguntungkan dari pebiotik pada fungsi immunitas di dalam usus belum secara gamblang dijelaskan. Namun demikian beberapa manfaat telah disepakati seperti: (1) serat prebiotik mampu menghambat regulasi enzim lipogenik hepatic, melalui peningkatan produksi asam lemak rantai pendek (SCFA) seperti propionate, (2) produksi SCFA dari fermentasi serat khususnya butirat telah teridentifikasi sebagai modulator acetilasi histon dan akibatnya peningkatan aksesibilitas gen untuk faktor transkripsi, (3) modulasi produksi musin, (4) FOS dan beberapa probiotik lain telah menunjukkan peningkatan jumlah limfosit dan atau leukosit di dalam jaringan limfoid yang berhubungan dengan usus (*gut-associated lymphoid tissue/GALT*), (5) peningkatan sekresi IgA oleh GALT untuk menstimulasi fungsi fagositose intraperitoneal makrofage.

Sumber prebiotik antara lain: ASI, kedelai, sumber inulin, gandum mentah, unrevined gandum, unrevined barley, karbohidrat non-digestible, dan oligosakarida non-digestible. Namun demikian hanya non-digestible oligosakarida (inulin, produk oligofruktosa terhidrolisa, trans galakto-oligosakarida (GOS) yang memenuhi kriteria sebagai prebiotik. Prebiotik inulin memberikan beberapa manfata kesehatan seperti menurunkan keparahan dan durasi diare, terbebas dari infamasi dan gejala lain berkaitan dengan gangguan usus besar dan efek pencegahan untuk menghindari kanker kolon. Prebiotik ini juga terlibat berperan dalam meningkatkan bioavailabilitas uptake mineral, mencegah obesitas.

4. Sinbiotik

Ketika Gibson mengenalkan konsep prebiotik dia berspekulasi manfaat tambahan jika prebiotik dikombinasikan dengan probiotik untuk membentuk apa yang disebut sebagai sinbiotik. Produk sinbiotik berpengaruh menguntungkan inangnya dengan meningkatkan daya tahan hidup dan penanaman suplemen makanan bagi mikroba hidup di dalam saluran gastro intestinal (GI), dengan stimulasi secara selektif pertumbuhan bakteri pemicu kesehatan. Produk sinbiotik dikembangkan dalam upaya mengatasi

kesulitan bagi bakteri probiotik untuk mempertahankan hidup. Beberapa prebiotik dan probiotik dipaparkan pada Tabel 4.3.

Sinbiotik memiliki fungsi untuk peningkatan fungsi imunitas. Misalnya kombinasi *B. coagulans* dengan inulin dalam diet selama 6 minggu menginduksi secara signifikan penurunan dalam level protein C-reactive dan juga peningkatan level glutation (Saulnier et al., 2009). Suplementasi sinbiotik *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan 10%FOS dalam tikus yang diberi pangan dengan lemak tinggi, rendah serat menekan usus dan inflamasi sistemik dan pengaruhnya sebanding dengan suplementasi dengan FOS.

Tabel 4.3. Novel prebiotik.

Novel prebiotik	
Prebiotik	Sumber
Polisakarida berat molekul rendah	Agar agar dan alginate rumput laut <i>Gelidium</i> CC2252.
Ulvan	Green alge-Ulvarigida
B-glukan	<i>Pleurotus</i> sp. (pleuran) mushroom
Inulin-type fruktan	Akar dari tanaman obat Cina <i>Morinda officinale</i>
Oligosakarida	Buah naga berdaging putih dan merah

Sumber Saulnier et al., 2009.

Implantasi sinbiotik lebih efisien dilakukan di dalam kolon karena secara bersamaan mempengaruhi pertumbuhan probiotik dan bacteria indigenus yang berkontribusi menjaga homeostatis usus dan kesehatan tubuh. Beberapa faktor meliputi pH, H₂O₂, asam organik, oksigen, tekanan uap berpengaruh pada viabilitas probiotik khususnya pada susu seperti yogurt. Probiotik strain yang digunakan di dalam formulasi sinbiotik meliputi *Lacbobacilli*, *Bifidobacteria spp*, *S. boulardii*, *B. coagulans*.

Sementara itu prebiotik utama yang digunakan meliputi oligosakarida seperti fruktosakarida (FOS), GOS dan xyloseoligosaccharida (XOS), inulin, prebiotuk dari sumber alami seperti chicory dan akar yacon. Manfaat kesehatan yang diperoleh manusia dengan konsumsi sinbiotik yaitu (1) meningkatnya level lactobacilli dan bifidobacteria dan keseimbangan mikrobiota usus, (2) meningkatnya fungsi liver di dalam penderita kanker hati, (3) meningkatnya kemampuan immunomodulasi, (4) pencegahan translokasi bacteria dan menurunnya insiden infeksi nosokomial pada pasien yang mengalami operasi.

5. Tantangan untuk formulasi probiotik

Ketidak patutan/sesuaian penggunaan istilah “probiotik” dan kegagalan mengenali pentingnya spesifikasi strain dan specific dosis merupakan hal yang perlu dipikirkan. Probiotik, ketika dihasilkan sebagai suplemen nutrisi, bukan obat, kurang melakukan pengawasan peraturan seolah hal tersebut bukan suatu kewajiban produsen/pabrik untuk melakukan klaim terhadap kemanjuran, atau keamanannya, dan suplemen nutraseutikal. Hal ini merupakan sebab utama terhadap rendahnya hingga tidak adanya kemanjuran dan informasi keamanan terhadap produk komersial. Tantangan bagi para ahli yang bekerja pada aspek medis terhadap pangan fungsional dan probiotik, prebiotik, dan sinbiotik dan pangan novel adalah untuk menerapkan ilmu baru yang dihasilkan oleh peneliti dalam bidang flora usus. Pena (2007) menyarankan bahwa riset probiotik yang dilakukan sekarang pada persimpangan gastroenterology, imunologi, dan mikrobiologi dan sangat dinamis pada kedua area dasar dan area klinis. Pemahaman lebih lanjut terhadap mekanisme molekular kompleks dan area klinis. Untuk memahami mekanisme molekular kompleks yang mengaju pada mekanisme molekul kompleks yang mengarah pada efektivitas mikroflora dalam usus. Pemahaman lebih jauh mengenai mekanisme molekular kompleks mengarah ke efektivitas probiotik akan memacu pengembangan formulasi probiotik lebih sukses. System delivery target lebih spesifik bersamaan dengan dosis yang sesuai perlu dikembangkan. Pengembangan yang diperlukan meliputi: (1) formulasi probiotik

seharusnya meningkatkan shelf life dan mengetahui sel aktif probiotik hidup bahkan setelah penyimpanan lama, (2) evaluasi metode perlu dibentuk untuk meyakinkan bahwa formulasi sesungguhnya mengandung bacteria probiotik hidup yang terbukti mempunyai efek klinis. Riset yang perlu dicermati antara lain (1) riset terpadu diarahkan untuk mengetahui efek probiotik pada gangguan jantung seperti myocardial infarction, atherosclerosis, (2) neuro-gastroenterologist, dugaan mendalilkan adanya system syaraf usus, perannya dan partisipasinya dalam fisiologi usus dan gangguan penyakit usus lainnya.

6. Perdebatan peran probiotik dan prebiotik

Timbulnya probiotik menyebabkan penyakit jarang terjadi, tetapi efek samping yang umum sering dijumpai adalah gangguan pencernaan seperti kembung. *S. boulardii* dan *Lactobacillus* telah dilaporkan mempercepat komplikasi dalam kelompok pasien tertentu khususnya immune-compromise subject. Wanita hamil, bayi baru lahir dan manula mempunyai resiko tinggi terhadap probiotik dan berpotensi menyebabkan infeksi karena golongan tersebut immune-compromized. Beberapa strain *Lactobacillus* secara alami resisten vancomisin, hal ini menimbulkan perhatian mengenai kemungkinan perpindahan sifat resistensi tersebut menjadi organism yang lebih patogen dalam lingkungan usus. Fermentasi FOS dalam kolon mengarah ke produksi hydrogen dan CO₂ yang dapat menyebabkan ketidak nyamanan manusia. Intake prebiotik yang berlebihan terutama oligosakarida seperti FOS, GOS menyebabkan ketidak nyamanan perut seperti kembung dan distensi, demikian juga level flatulensi yang signifikan.

7. Probiotik khamir

Salah satu ilmuwan Perancis yaitu Henri Boulard berada di Cina pada tahun 1920 pada saat terjadi outbreak kolera. Henri mengamati bahwa orang yang mengunyah kulit buah leci dan manggis (mangosteen) atau untuk sediaan teh tidak mengalami gejala kolera. Pengamatan ini mengawali Henri untuk mengisolasi khamir buah tropis yang kemudian disebut *S. boulardii* dari buah leci

dan buah manggis, yang kemudian sekarang menjadi satu khamir probiotik komersial.

Alasan utama khamir dipertimbangkan mempunyai fungsi probiositas adalah karena mampu survive melalui saluran usus manusia (Lourens-Hattingh and Viljoen 2001). Suatu kondisi yang menggambarkan bahwa mikroorganisme akan singgah berurutan setelah melalui saluran gastric dan kemudian saluran usus, maka untuk menentukan daya survival strain di dalamintestinum dilakukan setelah dipapar dalam larutan gastric. Barrier pertama yang utama yang ditemuioleh mikroorganisme setelah ingestion ditelan adalah gastric jus yang mempunyai efek hambatan terutama berkaitan dengan pH dan konsentrasi asam klorida. pH yang diekskresikan oleh HCl di dalam lambung adalah 0,9 tetapi dengan adanya makanan maka pH meningkat menjadi 3.0. Disamping itu, adanya makanan atau kompenen makanan lain mempunyai efek buffering terhadap probiotik yang ditelan, mengurangi efek protektif sel mikroba di dalam lambung. Berdasarkan hal ini maka seleksi strain yang tahan terhadap kondisi asam lambung adalah pada pH 2,5. Penentuan sebagai probiotik, mikroorganisme harus survive pada kondisi asal lambung dan juga pada sekresi intentinum dan garam empedu dalam saluran duodenum. Garam empedu yang dibebaskan ke dalam intestinum bagian upper mempunyai fungsi seperti deterjen (detergen-like function) dan berperan secara spesifik dan non-spesifik dalam mekanisme perlawanan dari gut (usus). Oleh karena itu garam empedu merupakan titik kritis bagi mikroorganisme yang tersusun dari lipid dan asam lemak, dan kemanjuran efek penghambatan khususnya ditentukan oleh konsentrasi garam empedu. Walaupun konsentrasi garam empedu dalam saluran GI bervariasi, namun rata-rata konsentrasi garam empedu yang digunakan dalam uji probiositas adalah 0,3% (w/v). Resistensi terhadap garam empedu sebagai kriteria sangat penting dalam seleksi kultur karena garam empedu dapat mensupport mendorong pertumbuhan mikroorganisme di dalam saluran intestinum. Sifat probiostas khamir dan bakteri dirangkum pada Tabel 4.4.

Sifat probiositas khamir yang paling penting adalah kemampuannya melawan mikroba patogenik melalui mekanisme farmakodinamic (pharmacodynamic) dan farmakokinetik (pharmacokinetics). Mekanisme farmakokinetik yaitu bahwa sel *S. cerevisiae* hidup dalam sediaan bioterapeutik atau sebagai agensia probiotik yang berfungsi re-equilibrium mikroflora intestinum, sedangkan farmakodinamik yaitu bahwa sediaan sel hidup *S. cerevisiae* menunjukkan kemanjurannya sebagai pengobatan terhadap penyakit diare kambuh yang terutama disebabkan oleh bakteri *Clostridium difficile*. Pada awalnya, aktivitas khamir serta kemampuannya daya tahan hidup setelah melalui saluran pencernaan manusia (GI= gastrointestinal tract), toleransinya terhadap pH rendah dan garam empedu, telah menarik perhatian kemungkinan khamir dimanfaatkan sebagai probiotik (Lourens-Hattingh and Viljoen 2001), walaupun penggunaannya untuk pengobatan manusia masih belum diijinkan. Namun, studi lanjut yang difokuskan pada seleksi strain khamir baru sebagai probiotik oleh van der AaKu'hle et al. (2005), menyimpulkan bahwa *S. cerevisiae* merupakan sumber nutrisi antara lain sel khamir sebagai sumber protein, vit B kompleks dan mineral esensial. Seleksi dari beberapa produk pangan yang mengandung khamir *S. cerevisiae* yang berpotensi sebagai probiotik yaitu mampu bertahan hidup dalam kondisi simulasi saluran pencernaan manusia, sesuai dengan prosedur uji potensial strain *Lactobacillus* dari sosis terfermentasi (Pennacchia et al., 2004). Beberapa fungsi kesehatan khamir probiotik.

Sebagai barrier kesehatan usus. Barrier kesehatan usus adalah faktor kunci dalam menjaga kesehatan. Di dalam saluran GI, sel intestinum dikemas rapat padat yang bertindak sebagai barrier proteksi yang mencegah zat asing seperti senyawa allergen, makan yang tidak tercerna, parasit, dan racun dari bocor langsung ke dalam aliran darah. Kemasan sel kompak padat tersebut mewakili barrier utama yang ditemukan dalam jalan diantara sel epithelial usus. *S. boulardii* telah membuktikan dapat meningkatkan struktur persimpangan ketat yang memastikan bahwa makanan dan nutrisi

dari asupan diserap usus dengan tepat, dengan cara membloking masuknya zat berpotensi bahaya.

Blokade pathogen. Ekosistem usus dikatakan dalam keadaan keseimbangan bila bakteri pendukung kesehatan, atau probiotik dalam jumlah melimpah dan spesies pathogen terjaga dengan kondisi kontrol. Beberapa faktor yang dapat merusak keseimbangan ekosistem kesehatan usus meliputi penggunaan antibiotic, asupan/diet tinggi pangan olahan, dan juga faktor stress, serta ketidakseimbangan pathogen. *S. boulardii* mampu memperbaiki keseimbangan mikroba sehat/baik dengan berkompetisi melawan bakteri berbahaya. Mikroflora pathogen yang menempel (pathogen adherent microflora/PAM) adalah probiotik yang dapat mengikat dan melenyapkan pathogen selama probiotik normal melalui saluran GI. *S. boulardii* merupakan PAM yang ideal karena dapat menarik pathogen dengan adanya senyawamanosa pada dinding selnya. Beberapa penelitian menghasilkan bahwa bakteri pathogen seperti *E. coli* dan *Salmonella* berikatan secara ireversibel dengan dinding sel *S. boulardii*, sehingga terjadi penurunan daya pengikatan pathogen dengan sel usus. *S. boulardii* bersaing secara efektif melawan *Clostridium difficile*, yaitu bakteri yang mampu tumbuh berkembang biak dalam tubuh penderita selama pemakaian antibiotic, dan berperan dalam beberapa penyakit gangguan saluran GI yang terjadi segera setelah terapi pengobatan dengan antibiotic.

Tabel 4.4. Perbedaan utama sifat probiositas antara khamir dan bakteri.

Karakteristik	Bakteri	Khamir
Signifikansi keberadaannya di dalam usus manusia	99%	<1%
Ukuran sel	1 μm	10 μm
Dinding sel	Peptidoglikan, LPS (Gram negative), LTA (Gram positif)	Kitin, manosa (PPM, PLM), glukukan.
Kondisi pertumbuhan optimal:		4,5-6,5
- pH	6,5-7,5	20-30
- Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	10-80	Tidak
Resistensinya terhadap antibiotik	Ya	
Sifat probiositas	Reaksinya di dalam GI pada posisi yang berbeda	Respon imun melalui TLRs, reseptor lektin.

LPS= lipopolisakarida, LTA=asam lipoteikoik, PPM=phosphopeptidomanan, LPM=phospholipomanan, TLR=Toll-like reseptor, GI=saluran pencernaan.

Sumber Czerucka et al. 2007.

Kekebalan tubuh. Disamping fungsinya meningkatkan level sIgA dan sebagai barrier usus, *S. boulardii* meningkatkan response kekebalan tubuh dengan cara meningkatkan kesehatan aktivitas sel darah putih. Hal ini telah dibuktikan bahwa penderita yang diberi *S. boulardii* menunjukkan peningkatan level sIgA dan diikuti penurunan protein C-reactive yaitu sebuah indikator keseimbangan respon inflamasi. Oleh karena itu para peneliti menyimpulkan bahwa *S. boulardii* meningkatkan respon kekebalan tubuh sehat dan

melindungi fungsi barrier GI dengan cara menjaga siklus inflamasi sehat di dalam saluran GI.

Sebagai pengobatan klinis. Probiotik adalah mikroorganisme baik bakteri maupun khamir non-patogenik hidup yang jika diberikan dalam jumlah yang sesuai memberikan efek kesehatan bagi inangnya. Saat ini, *S. boulardii* satu satunya khamir yang sudah digunakan dalam praktek klinis. Beberapa produk *S. boulardii* komersial banyak tersedia yang dijual baik dalam sediaan beku-kering atau bubuk pengeringan dengan panas (heat-dried) dalam kapsul, atau bentuk minuman cair. Kualitas produk tersebut sangat bervariasi dan walaupun kebanyakan bentuk produknya mengandung paling sedikit 1×10^9 cfu/g, pengujian terpisah telah menentukan bahwa sekitar 50% produk mengandung kurang dari jumlah tersebut. Perbedaan dalam kemanjuran dapat terjadi karena (1) dosis yang tidak sesuai atau lebih rendah dari yang telah ditentukan, selain itu juga (2) komposisi strain yang tidak akurat, yang dapat disebabkan oleh antara lain teknik produksi probiotik terutama shelf life nya, (3) penyiapan produk misalnya produk menggunakan strain tunggal atau campuran. Walaupun menurut data klinis diketahui bahwa penggunaan strain campuran *S. boulardii* dengan probiotik lain mempunyai efek yang lebih baik. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa kemanjuran preparasi penyiapan probiotik untuk pengobatan penyakit gastrointestinal berkaitan dengan strain probiotik dan dosis penggunaannya.

Penghambatan terhadap pathogen. Secara *in vitro*, *S. boulardii* secara langsung menghambat pertumbuhan beberapa pathogen seperti *Candida albicans*, *E. coli*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Entamoeba histolytica*, and cell invasion by *Salmonella typhimurium* and *Yersinia enterocolitica* (Heitman, 2006). Khamir dapat juga bertindak dengan meningkatkan integritas yang kuat pada sambungan diantara enterosit, sehingga menjaga fungsi dan integritas usus. *S. boulardii* juga mampu mengurangi translokasi pathogen dalam hewan model tikus dan babi, dan *S. boulardii* dapat juga mengganggu tercampur dengan perlekatan pathogen pada sisi reseptor usus. Pada infeksi enteropatogenik *E. coli* (EPEC), *S. boulardii* bertindak sebagai umpan

yang menyebabkan sel bakteri langsung berikatan pada permukaan *S. boulardii* dari pada berikatan pada enterocit. Secara *in vitro*, *S. boulardii* menghambat perlekatan *C. albicans* pada sel epitelium dipermukaan. Pengaruh ini juga terjadi pada pengamatan menggunakan ekstrak *S. boulardii* (*in vitro*). Asam kaprat yang disekresi oleh *S. boulardii* berperan untuk menghambat pembentukan filament *C. albicans* dengan cara menghambat perlekatan dan pembentukan biofilm (Murzynet al., 2010).

Probiotik khamir sebagai ingredien pangan. Potensi strain khamir sudah banyak diakui berguna untuk meningkatkan karakter buah, untuk meningkatkan beberapa karakter aroma fermentasi anggur, untuk membatasi produksi asam organik atau meningkatkan produksi gliserol, dan untuk membatasi off-rasa, termasuk yang disebabkan sulfur dan fenol yang mudah menguap. Penggunaan *Saccharomyces* yang berbeda strain untuk fermentasi anggur menghasilkan anggur dengan profil senyawa volatile yang berbeda, ditimbulkan oleh konsentrasi ester asam asetat, asam lemak etil ester, alkohol tinggi yang relatif bervariasi serta tiol yang mudah menguap. Investigasi juga telah dilakukan untuk menyelidiki efek dari inokulasi simultan dan coinoculation dengan strain khamir untuk melakukan fermentasi anggur. Pengembangan keju fungsional dengan penambahan probiotik *S. boulardii* dan prebiotik inulin dengan cara enkapsulasi dengan sodium alginate dan cactus mucilage (Zamora-Vega et al., 2013). Karakteristik organoleptik (warna, bau, rasa, tekstur dan penerimaan keseluruhan) keju menunjukkan bahwa penambahan prebiotik dan probiotik meningkatkan sifat organoleptik dan lebih diterima konsumen. Penambahan simbiosis *S. boulardii* dan inulin tidak mengubah komposisi kimia dari keju. Viabilitas mikroorganisme probiotik selama pengolahan keju. memenuhi kuantitas minimum yang direkomendasikan oleh Organisasi Pangan dan Pertanian untuk keju ini dianggap sebagai makanan probiotik. Pada abad keempat SM, bapak kedokteran Hippocrates (460-370 SM), membuat istilah populer "*Let food be your medicine and medicine be your food*"/ Biarkan makanan menjadi obat dan obat-obatan menjadi makanan Anda ", yang menekankan peran makanan dalam pencegahan

penyakit dan mengenalkan fungsi tambahan terhadap makanan, dan juga untuk menyediakan nutrisi tubuh kita. Baru-baru ini pada tahun 1989 Dr. Stephen Defelice menemukan kata "Nutraceutical" (campuran nutrisi dan farmasi) dan didefinisikan sebagai makanan atau bagian dari makanan yang memberikan manfaat medis atau kesehatan, termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit ". Produk makanan tersebut kemudian disebut sebagai "Pangan fungsional" (Yadav et al., 2012). Peraturan awal untuk makanan fungsional didirikan oleh Jepang pada tahun 1991 dengan istilah "foods for specified health use/makanan untuk digunakan kesehatan tertentu" (FOSHU), yang dikembangkan untuk meningkatkan kesehatan dan mengurangi risiko penyakit. Permintaan untuk jenis makanan fungsional telah berkembang di negara-negara Asia sejak abad kedua puluh-an dan baru-baru ini penggunaannya telah menyebar dengan cepat ke negara-negara di Eropa, Afrika dan Amerika. Saat ini, penelitian dan pengembangan makanan fungsional baru didasarkan pada studi mikroorganisme probiotik, dan beberapa kelompok bahan kimia yang ditemukan dalam makanan nabati seperti prebiotik, flavonoid, terpen, karotenoid, fitoestrogen, beta-glucan, asam lemak Ω -3 dan Ω - 6, untuk membuktikan aktivitas biologis senyawa senyawa tersebut dan efek menguntungkan potensial pada kesehatan (Ramirez, 2009).

Perbedaan Antara *S. boulardii* dan *S. cerevisiae*

Saccharomyces boulardii berkerabat dekat secara taksonomi dengan *Saccharomyces cerevisiae* (Lukaszewicz, 2012). Perbedaan yang paling nyata diantara kedua khamir adalah *S. boulardii* memiliki suhu pertumbuhan optimal yang tinggi yaitu 37°C, suhu yang sama dengan suhu tubuh manusia. Disamping itu, *S. boulardii* tahan pada kondisi pH asam. Klasifikasi khamir pada secara fenotipik atau cara tradisional/konvensional berdasar pada profil fisiologi dan biokimia. tidak bisa memisahkan apakah *S. boulardii* dikelompokkan sebagai spesies atau sebagai sub spesies dari *S. cerevisiae*. Untuk mengatasi hal ini maka digunakan teknik molekuler untuk mengelompokkan strain dari khamir. Hasil analisis menunjukkan bahwa analisis polimorfisme microsatellite gen YKL139 dan YLR177 demikian juga

analisis hibridisasi TY917 adalah alat yang paling tepat untuk identifikasi strain *S. boulardii* dengan benar.

Tabel 4.5 menyajikan beberapa perbedaan dan kesamaan antara *S. boulardii* dan *S. cerevisiae*. Sistem metabolisme dan fisiologi *S. boulardii* berbeda dengan *S. cerevisiae* khususnya ketika dikaitkan dengan yield dan resistensinya terhadap tekanan, suhu dan asam. *S. cerevisiae* tumbuh dan melakukan metabolisme pada suhu 30°C, sementara *S. boulardii* adalah termotoleran yaitu lebih toleran terhadap suhu dan suhu optimal pertumbuhannya 37°C. *S. boulardii* strain W303 lebih resisten dari *S. cerevisiae* terhadap simulasi lingkungan gastric. Taksonomi penggolongan kedua khamir tersebut menggunakan teknik molekuler. Perbedaan utama pada metabolitnya terletak pada trehalosa, myo-inositol, asam laktat, asam fumarat dan glycerol-3-fosfat. *S. boulardii* adalah spesies yang berbeda dari khamir baik baker's yeast, brewer's yeast, atau wine's yeast. *S. boulardii* terpisah dari spesies *Saccharomyces* berdasarkan parameter taksonomi, metabolisme, dan parameter molekuler. *S. boulardii* adalah jenis *Saccharomyces* liar yang tidak menghasilkan askospora atau menggunakan galaktosa sebagai sumber karbon seperti yang digunakan oleh strain *S. cerevisiae*. Strain *S. boulardii* mempunyai kode American Type Culture Collection (ATCC #74012). *S. boulardii* mempunyai perbedaan dalam pola utilisasi secara oksidasi dan fermentasi yang membedakannya dari *S. cerevisiae*.

Tabel 4.5. Similaritas dan diferensitas diantara *S. boulardii* dan *S. cerevisiae*

<i>S. boulardii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Suhu pertumbuhan optimum lebih tinggi (37°C)	Suhu pertumbuhan optimum lebih rendah (30°C)
Karyotype <i>S. boulardii</i> sangat mirip dengan karyotype <i>S. cerevisiae</i>	RFLP atau PCR (5,8S rDNA) tidak bisa memisahkan <i>S. boulardii</i> dari <i>S. cerevisiae</i>
Tidak merombak galaktosa	Menggunakan galaktosa
Asporogenus berbeda dengan <i>S. cerevisiae</i> tetapi bisa menghasilkan hybrid fertile dengan <i>S. cerevisiae</i>	Sporogenus
Kehilangan semua elemen Ty1/2	Mengandung beberapa elemen Ty1/2
Trisomik untuk kromoso IX	Terdapat strain yang stabil dengan berbagai ploidy

Sumber Lukaszewicz (2012).

Walaupun terdapat perbedaan pendapat kecil, *S. cerevisiae* dan *S. boulardii* dinyatakan secara ilmiah mempunyai aktivitas bioterapeutik dalam mencegah beberapa jenis penyakit diare dan colitis pada manusia. *S. boulardii* adalah mikroorganisme yang aman, tidak beracun, non-patogen; juga merupakan mikroorganisme termofilik tahan terhadap keasaman lambung dan proteolisis, sehingga dapat ditanam dalam jumlah besar di saluran pencernaan, memelihara konstan viabilitas. Ada beberapa penelitian tentang penggunaan *S. boulardii* sebagai agensia potensial untuk pengobatan biotherapeutic terkait dengan mikroorganisme penyebab diare dan radang usus. Juga, viable sel *S. boulardii* telah digunakan untuk meningkatkan ketahanan ekosistem usus terhadap infeksi bakteri. *S. boulardii* (strain CDBB-L-1483 ATCC-MYC-797) yang diperoleh dari CINESTAV-IPN (México), disimpan dalam pendingin pada suhu 4°C dalam media PDA dan diaktifkan ketika diperlukan. Untuk mengaktifkan kembali, sel khamir ditumbuhkan dalam media

Nutrien broth pada 30°C, sampai diperoleh konsentrasi 10^{10} CFU/g. *S. boulardii* dapat dianggap sebagai obat probiotik, dan dapat dikonsumsi dalam bentuk bubuk beku kering. Jumlah *S. boulardii* di dalam usus dapat *steady state* dalam pemberian terus menerus selama tiga hari, dan bersih dari usus besar dalam 2-5 hari setelah pemberian dihentikan.

8. Probiotik Bakteri Asam Laktat

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan. Mikroorganisme yang berpeluang besar melintasi dan hidup pada saluran pencernaan adalah yang berasal dari tubuh manusia sendiri. Oleh karena itu pada awalnya bakteri yang digunakan untuk pembuatan probiotik diisolasi dari usus manusia atau dari feses bayi sehat. Pada Tabel 4.6 dapat dilihat mikroorganisme yang dominan terdapat pada saluran pencernaan manusia.

Tabel 4.6. Distribusi dan komposisi mikroflora intestinal.

Daerah	Komposisi	Jumlah total/mL material
Lambung	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>	10^2
Duodenum dan jejunum	<i>Streptococcus</i> dan <i>Lactobacillus</i> .	$10^2 - 10^4$
Ileal-cecal	<i>Bacteriodes</i> , <i>Streptococci</i> , <i>Lactobacilli</i>	$10^6 - 10^8$
Kolon	<i>Bacteriodes</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Fusobacterium</i>	$10^{11} - 10^{12}$

Sumber Lichtenstein and Goldin dalam Jay et al., 2005

Terdapat sekitar 100 spesies dan lebih dari 10^{14} cfu/gram terdapat dalam saluran pencernaan, termasuk bakteri-bakteri patogen dan bakteri yang menguntungkan. Mikroflora dalam saluran pencernaan manusia sehat relatif stabil, tetapi bervariasi bergantung dari kondisi fisiologis, pangan yang dikonsumsi, pengobatan yang sedang dijalani, stress dan umur.

Beberapa probiotik umum meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. Ada pula satu spesies ragi yang digunakan sebagai probiotik: *Saccharomyces boulardii*. Beberapa bakteri yang umum dipakai dalam produk tapi tanpa efek probiotik (bakteri yoghurt): *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*. Beberapa bakteri lain disebutkan dalam produk probiotik: *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus caucasicus*. Pada Tabel 4.7. berikut ini disajikan berbagai macam tipe probiotik dan bakteri probiotik yang umumnya digunakan.

Tabel 4.7. Tipe-tipe produk probiotik dan bakteri probiotik BAL yang digunakan.

Probiotik	Bakteri yang umum digunakan
Produk susu fermentasi (yogurt, buttermilk, susu asidofilus).	<i>L. bulgaricus</i> , <i>Strep. thermophiles</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>Bifidobacteria spp</i> , <i>L. reuteri</i>
Pangan yang disuplementasi (susu pasturisasi)	<i>L. bulgaricus</i> , <i>Strep thermophiles</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria spp</i> , <i>L. reuteri</i> .
Pharmaceutical (tablet, kapsul, granula)	<i>L. bulagaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria spp</i>
Produk health food (cairan, kapsul, bubuk)	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria spp</i> , <i>Lactobacillus spp</i> .

Sumber Jay et al., 2005

Beberapa produk fermentasi mengandung asam laktat bakteri yang mirip walaupun sering belum dibuktikan memiliki efek probiotik atau kesehatan termasuk: Kefir, Yogurt, Sauerkraut, Kimchi, Kombucha. Agar suatu mikroorganisme menjadi probiotik yang efektif dalam memberi efek kesehatan maka disyaratkan berasal dari manusia (human origin), stabil terhadap asam maupun cairan empedu, dapat menempel pada sel intestine manusia, dapat berkolonisasi di saluran pencernaan manusia, memproduksi senyawa antimikroba, dapat melawan bakteri patogenik dan kariogenik, telah terujisecara klinis aman dikonsumsi, serta tetap hidup selama pengolahan dan penyimpanan. Selain itu konsumsi harus dilakukan secara teratur sebanyak 100-150 ml produk (berisi 10^6 /ml bakteri hidup) setiap 2 atau 3 kali seminggu. Saat ini terus dikembangkan penelitian-penelitian yang menggunakan mikroorganisme yang diisolasi dari usus manusia untuk digunakan dalam pembuatan probiotik. Bentuk produk probiotik bervariasi tidak lagi hanya dalam bentuk makanan atau minuman, tetapi juga tablet atau kapsul.

Probiotik BAL sebagai pangan fungsional.

Sampai saat ini belum ada definisi pangan fungsional yang disepakati secara universal. The International Food Information (IFIC) mendefinisikan pangan fungsional sebagai pangan yang memberikan manfaat kesehatan diluar zat-zat dasar. Menurut konsensus pada The First International Conference on East-West Perspective on Functional Foods tahun 1996, pangan fungsional adalah pangan yang karena kandungan komponen aktifnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan, di luar manfaat yang diberikan oleh zat-zat gizi yang terkandung di dalamnya. Definisi pangan fungsional menurut Badan POM adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Serta dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman, mempunyai karakteristik sensori berupa penampakan, warna, tekstur dan cita rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Selain tidak memberikan kontraindikasi dan tidak memberi efek samping

pada jumlah penggunaan yang dianjurkan terhadap metabolisme zat gizi lainnya. Secara mudah dapat dikatakan bahwa pangan fungsional adalah bahan pangan yang berpengaruh positif terhadap kesehatan seseorang, penampilan jasmani dan rohani selain kandungan gizi dan cita-rasa yang dimilikinya. Meskipun mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, pangan fungsional tidak berbentuk kapsul, tablet, atau bubuk yang berasal dari senyawa alami (Badan POM, 2001). Pangan fungsional dibedakan dari suplemen makanan dan obat berdasarkan penampakan dan pengaruhnya terhadap kesehatan. Kalau obat fungsinya terhadap penyakit bersifat kuratif, maka pangan fungsional hanya bersifat membantu pencegahan suatu penyakit. Pangan fungsional dapat berupa makanan dan minuman yang berasal dari hewani atau nabati. Pada kelompok ini kita jumpai juga kelompok raksasa minuman dan makanan probiotik (diperkaya dengan mikroflora yang membantu pencernaan). Salah satu produk probiotik Jepang dengan kultur hidup *Lactobacillus casei* var. *shirota* yang sangat sukses dalam merebut pasar dunia diproduksi dengan label Yakult. Kelompok besar lain dalam kategori ini adalah produk prebiotik (diperkaya dengan komponen-komponen yang dapat membantu pertumbuhan mikroflora dalam usus besar) seperti minuman dengan oligosakarida. Produk pangan fungsional pertama yang sukses secara komersial di Jepang adalah dari kelompok ini yang dikenal dengan nama Fibemini.

Peran probiotik BAL dalam kesehatan.

Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh dapat melalui 3 (tiga) mekanisme fungsi: (1) fungsi protektif, yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen); (2) fungsi sistem imun tubuh, yaitu dengan peningkatan sistem imun tubuh melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivasi makrofag,

modulasi profil sitokin, serta menginduksi hyporesponsiveness terhadap antigen yang berasal dari pangan.; (3) fungsi metabolit probiotik yaitu metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, termasuk kemampuan probiotik mendegradasi laktosa didalam produk susu terfermentasi sehingga dapat dimanfaatkan oleh penderita lactose intolerance. Efek Probiotik terhadap kesehatan antara lain: penanggulangan diare, menstimulasi sistem kekebalan (immune) tubuh, menurunkan kadar kolesterol, pencegahan kanker kolon danusus, dan penanggulangan dermatitis atopik pada anak-anak, menanggulangi penyakit irritable bowel syndrome, penatalaksanaan alergi (Vanderhoof, 2008), pencegahan dan penanganan penyakit infeksi. Efek probiotik terhadap kesehatan dan mekanismenya dalam tubuh disajikan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Efek probiotik BAL terhadap kesehatan dan mekanismenya.

Manfaat	Fungsi	Mekanisme
Membantu pencernaan	Irritable bowel syndrome, mengurangi gejala saluran cerna (onstipasi, diare non patogenik, flatulensi, kram, nafas berbau penyebab dari gangguan pencernaan.	Perubahan populasi atau aktivitas dari microflora usus.
Sebagai pertahanan tubuh	Alergi (eksema atopik, alergi terhadap susu, rematik arthritis) Karsinogenik. Karsinogenik mutagenic, tumor	Translokasi, efek barrier. Perubahan populasi, aktivitas microflora oral atau yang menempel pada gigi. Penyerapan mutagen, merangssang system imun, penghambatan produksi karsinogen oleh microflora usus.
	Diare karena penggunaan antibiotika, diare yang	Kompetisi pengeluaran, translokasi/efek

	disebabkan oleh <i>Rotavirus</i> , colitis yang disebabkan oleh <i>C. difficile</i> , diare nosocomial.	barrier, meningkatkan respon imun.
	Peradangan usus, Kolitis ulterasi, penyakit Crohn's Pertumbuhan bakteri usus yang berlebihan.	Penurunan regulasi respon imun. Aktivitas antimikroba, pengeluaran kompetisi.
	Immunomodulasi (status imun, respon vaksin)	Interaksi dengan sel imun untuk meningkatkan aktivitas fagositosis dari sel darah putih, meningkatkan IgA setelah kontak dengan antigen. Meningkatkan proliferasi leukosit intra epitel, regulasi Th1/Th2, induksi sitosis sitokin.
	Vagositosis, infeksi saluran kemih.	Aktivitas antipatogenik, pengeluaran kompetisi.
Manfaat lain	Menurunkan kolesterol darah. Endotoksemia dengan sirosis. Hipertensi Batu ginjal	Dekonjugasi garam empedu. Penghambatan produksi endotoksin oleh mikroflora usus. Unsur seluler atau peptide yang berasal dari aktivitas fermentasi sebagai penghambatan ACE (angiotensin Converting Enzyme). Perubahan pencernaan yang mempengaruhi pemecahan oksalat.

Sumber Sanders 2003.

Peran probiotik BAL pada sistem kekebalan tubuh.

Sistem kekebalan tubuh mempunyai fungsi sebagai penjaga kesehatan tubuh. Sepanjang hari ia akan mengidentifikasi patogen berbahaya dan substansi substansi asing lainnya yang ada dalam tubuh kita. Selama proses ini, sel kekebalan dan antibodi akan bekerja bersama dalam aliran darah untuk menghentikan sebaran virus dan bakteri jahat. Salah satu upaya untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah dengan mengonsumsi probiotik guna menunjang metabolisme tubuh. Fungsi bakteri probiotik adalah mengurangi bakteri patogen dalam usus, menstimulasi respons kekebalan, dan untuk menjaga kesehatan. Efek positif dari bakteri probiotik untuk mengatasi infeksi usus sudah diketahui. Oleh karena itu, sangatlah penting dipastikan probiotik dapat mencapai saluran pencernaan dalam jumlah yang memadai. Pemberian probiotik yang teratur dapat mempercepat penyembuhan diare yang disebabkan oleh infeksi kuman virus. Strain bakteri probiotik akan mengatur mikroflora usus, merintangi kolonisasi patogen, dan memindahkan bakteri patogen melalui dinding usus dan organ lain. Saat ini peneliti-peneliti probiotik juga telah menghasilkan temuan menarik, di mana bakteri probiotik tidak hanya menstimulasi sistem kekebalan secara umum, tetapi juga mengatur reaksi sistem kekebalan pasien yang menderita alergi ataupun menderita penyakit kulit/eksim (atopic dermatitis). Sebuah studi di Finlandia menunjukkan bahwa penyakit kulit eksem yang diderita anak-anak membaik secara signifikan setelah dua bulanditreatment dengan probiotik hypoallergenic, secara ekstensif dengan formula hydrolysed.

Temuan ini juga didukung oleh studi lebih lanjut yang menggunakan strain bakteri yang berbeda. Hasilnya menunjukkan bahwa alergi meluas yang berisiko kematian pada anak-anak berusia dua-empat tahun menjadi berkurang. Sebuah studi lain di Perancis melibatkan 287 anak (18,9-6 bulan) yang diberikan yogurt konvensional dan yogurt yang mengandung probiotik 10^8 cfu/ml *Lactobacillus casei*. Masing-masing produk diberikan setiap hari selama satu bulan. Hasilnya menunjukkan, durasi diare anak-anak yang mengonsumsi yogurt konvensional berkurang dari delapan hari

menjadi lima hari, sementara yang mengonsumsi yogurt mengandung probiotik, durasi diarenya berkurang menjadi hanya selama empat hari. Studi ini kemudian dikembangkan dan dikontrol oleh klinik uji multisenter yang melibatkan 928 anak (6-24 bulan). Anak-anak selama mengonsumsi *L casei* yang dicampur susu fermented setiap hari selama dua bulan, hasil pengamatan menunjukkan bahwa frekuensi diare yang dialami anak-anak tersebut berkurang lebih banyak jika dibandingkan dengan anak-anak yang mengonsumsi yogurt konvensional (15,9 persen VS 22 persen). Meskipun studi in vitro dan studi yang menggunakan hewan untuk uji coba menunjukkan bukti yang baik bahwa strain probiotik menghalangi pertumbuhan dan aktivitas metabolik pelekatan sel saluran pencernaan bakteri enteropathogenic seperti *Salmonella*, *Shigella*, atau *Vibrio cholerae*, sangat sedikit hasil penelitian yang mempublikasikan efek positif melawan bakteri yang menyebabkan diare pada manusia. Selain berguna untuk mencegah dan mengurangi durasi diare, mengatur mikroflora dalam usus, meningkatkan kekebalan, mencegah penyakit kulit/eksim, mencegah symptom pasien radang usus, bakteri probiotik juga diyakini bisa mengurangi sakit yang dikeluhkan penderita asma, serta mencegah kanker.

3. RINGKASAN

Aplikasi mikroba dalam (1) kultur starter. Kultur starter adalah satu atau lebih strain spesies mikroba yang diinginkan atau mikroba yang menguntungkan digunakan untuk menginokulasi suatu produk mentah atau produk pasturisasi untuk memulai proses fermentasi.

(2) Penggunaan bakteri asam laktat dalam fermentasi. Terdapat dua tipe fermentasi laktat yaitu homolaktik dan heterolaktik. Fermentasi homolaktik, ketika jalur glikolitik digunakan dalam fermentasi asam laktat, jalur keseluruhan disebut fermentasi homolaktik. Fermentasi heterolaktik misalnya *Leuconostoc* menyelenggarakan fermentasi heterolaktik menggunakan jalur fosfoketolase menghasilkan etanol dan CO₂ disamping asam laktat.

(3) Peranan mikroba sebagai probiotik, prebiotik dan sinbiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan suatu efek menguntungkan pada kesehatan inangnya ketika diberikan dalam jumlah yang memadai, sedangkan prebiotik adalah bahan makanan non-dicerna, yang fungsinya berperan sebagai makanan untuk mikroorganisme probiotik. Jika prebiotik dikombinasikan dengan probiotik untuk membentuk sinbiotik. Produk probiotik bisa mengandung satu strain tunggal atau campuran baik dari dua strain atau lebih. Efek probiosis sangat spesifik setiap strain dan tidak dapat di samakan. Produk sinbiotik berpengaruh menguntungkan inangnya dengan meningkatkan daya tahan hidup dan penanaman suplemen makanan mikroba hidup di dalam saluran gastro intestinal (GI). Probiotik harus mampu bertahan dalam host's natural barrier melawan mikroorganisme penyebab infeksi yang tertelan. Bakteri komensal di dalam usus membentuk system mikroflora heterogen dengan jumlah kurang lebih 10¹⁴ bakteri. Khamir merupakan bagian dari mikroflora yang tersusun atas <0,1% dari keseluruhan jumlah mikroflora. Penentuan sebagai probiotik, mikroorganisme harus survive pada kondisi asal lambung dan juga pada sekresi intestinum dan garam empedu dalam saluran duodenum. Seleksi strain yang tahan terhadap kondisi asam lambung adalah pada pH 2,5, rata-rata konsentrasi garam empedu yang digunakan dalam uji probiosis adalah 0,3% (w/v). Resistensi terhadap garam empedu sebagai

kriteria sangat penting dalam seleksi kultur karena garam empedu dapat mendorong pertumbuhan mikroorganisme di dalam saluran intestinum.

(4) Terdapat probiotik khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae* var *Boulardii* dan probiotik bakteri asam laktat termasuk dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. Beberapa bakteri yang umum dipakai dalam produk tapi tanpa efek probiotik (bakteriyoghurt): *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Beberapa bakteri lain disebutkan dalam produk probiotik: *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus caucasicus*.

(5) Alasan utama *S. cerevisiae* dipertimbangkan mempunyai fungsi probiositas adalah bahwa *S. cerevisiae* mampu survive melalui saluran usus manusia karena dapat tumbuh pada kisaran pH yang lebar.

LATIHAN

Jawablah dengan tepat.

1. Fermentasi asam laktat homolaktik menggunakan jalur.....
2. Fermentasi heterolaktik mempunyai produk akhir yaitudan
3. Fermentasi susu menggunakan starter *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan produk....
4. Sifat probiotik yaitu:
 - a. mikroba hidup yang berfungsi sebagai pangan atau suplemen farmaseutikal,
 - b. mempunyai manfaat kesehatan manusia dan hewan ketika ditelan atau dimasukkan ke dalam saluran pencernaan,
 - c. berpengaruh terhadap salah satu dari tiga fungsi utama dari mikroflora normal intestinum yang meliputi resistensi terhadap kolonisasi dan berkontribusi terhadap immunomodulasi dan nutrisi.
 - d. benar semua.
5. Reaksi yang ditimbulkan oleh jenis probiotik.....adalah mengurangi gejala penyakit enterocolitis pada bayi baru lahir.
6. Jenis khamir probiotik yaitu.....
7. Pernyataan di bawah ini adalah prebiotic:
 - a. serat makanan yang non-digestible dan mempunyai manfaat bagi kesehatan inangnya,
 - b. dengan secara selektif merangsang/ menstimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas beberapa genera mikroorganisme di dalam kolon,
 - c. resisten terhadap reaksi asam di dalam lambung, garam empedu dan enzim hidrolisa lain di dalam usus, tidak seharusnya diserap di dalam upper GI, dan mudah terfermentasi oleh mikroflora menguntungkan di dalam usus.
 - d. benar semua

8. Yang termasuk ke dalam non-digestible oligosakarida yaitu:
- inulin.
 - produk oligofruktosa terhidrolisa.
 - trans galakto oligosakarida (GOS).
 - benar semua.
9. Prebiotik dikombinasikan dengan probiotik membentuk suatu kondisi yang bersifat memberikan manfaat tambahan, kondisi tersebut yaitu
- sinbiotik.
 - prebiotic.
 - probiotik.
 - salah semua
9. Namun demikian probiotik mempunyai efek samping tertentu bagi konsumen yang sensitive misalnya gangguan pencernaan seperti kembung. (Benar atau Salah)

BACAAN YANG DIANJURKAN

- Fleet GH. 1991. Cell walls. In *The Yeasts*, 2nd edn, vol 4, Rose AH, Harrison JS (eds).
- Kavita. R. Pandey, & Suresh. R. Naik, & Babu. V. Vakil. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review .
- Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B.C. 2001.
- Marcin Łukaszewicz, 2012. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* –Probiotic Yeast.
- Fuller R. Probiotics in man and animals.1989.

Kunci Jawaban

1. glikolitik.
2. Asam laktat dan CO₂.
3. Kefir.
4. d.
5. Bifidobacteria.
6. *Saccharomyces cerevisiae* var *boulardii*.
7. d.
8. d.
9. a.
10. Benar

KERUSAKAN PANGAN OLEH MIKROORGANISME

Capaian pembelajaran: mampu menjelaskan tentang jenis mikroba yang menyebabkan kerusakan dan mekanisme kerusakan pada makanan.

1. PENDAHULUAN

Makanan dikategorikan rusak apabila mengalami penurunan kualitas dari yang telah ditentukan. Faktor dalam menentukan kualitas makanan antara lain: warna, tekstur, citarasa yang meliputi (bau dan rasa), bentuk, dan tidak terdapat abnormalitas. Kerusakan mikroba bisa terjadi jika mikroba masuk ke dalam makanan, kondisi makanan (pH, a_w , potensi Redoks, nutrisi) mendukung pertumbuhan mikroba kontaminan, makanan disimpan pada suhu yang memungkinkan mikroba tumbuh, makanan disimpan pada kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroba dalam jangka waktu tertentu dalam jumlah tinggi. Sementara itu penurunan kualitas makanan dapat disebabkan oleh aktivitas serangga dan rodentia, faktor fisika dan kimia yang tidak diinginkan misalnya dehidrasi pada sayuran, oksidasi lemak, degradasi autolitik sayuran (pectinase) atau ikan (protease). Kerusakan oleh mikroba disebabkan oleh (a) pertumbuhan mikroba dalam makanan atau kerja enzim

mikroba (ekstraseluler dan intraseluler) yang terdapat dalam makanan, (b) parameter kerusakan makanan: warna, bau, tekstur, pembentukan lender, akumulasi gas, pelepasan cairan (eksudat), (c) kerusakan oleh pertumbuhan mikroba lebih cepat dibandingkan kerusakan akibat enzim mikroba. Kerusakan makanan oleh mikroba terjadi apabila (a) mikroba masuk ke dalam makanan, (b) kondisi makanan (pH, aw, potensi redoks, nutrisi) mendukung pertumbuhan mikroba kontaminan, (c) makanan disimpan pada suhu yang memungkinkan mikroba tumbuh, (d) makanan disimpan pada kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroba dalam jangka waktu tertentu dalam jumlah tinggi.

Faktor yang mempengaruhi kerusakan makanan oleh mikroba meliputi (1) Tipe mikroba. Makanan segar maupun olahan mudah ditumbuhi oleh kapang, khamir, bakteri yang mampu bermultiplikasi dan menyebabkan kerusakan. Bakteri memiliki waktu penggandaan sel yang pendek sehingga cepat menyebabkan kerusakan. Roti, keju, dry sosis, buah asam, sayuran tidak cocok untuk pertumbuhan bakteri dan khamir oleh karena itu prevalensi kapang tinggi. Makanan dalam keadaan anaerob dalam keadaan reduksi dan kerusakan terutama oleh kapang dan khamir. Insiden kerusakan makanan oleh mikroba yaitu bakteri lebih besar dari khamir dan lebih besar dari kapang (bakteri > khamir > kapang). (2) Jumlah mikroba. Kerusakan terjadi apabila mikroba mencapai jumlah tertentu yaitu: (a) kerusakan dapat terdeteksi jika jumlah mikroba 10^6 - 10^8 sel/gram, mL, cm^2 . (b) terjadi pembentukan H_2S , amonia, H_2O_2 jika jumlah mikroba $< 10^6$ sel/ gram, mL, cm^2 . (c) terjadi pembentukan lender jika jumlah mikroba $> 10^8$ sel/ gram, mL, cm^2 . (d) makanan dengan jumlah awal mikroba besar serta penyimpanan yang memungkinkan pertumbuhan mikroba dengan cepat sehingga lebih mudah rusak. (e) mengurangi kerusakan makanan jika jumlah mikroba awal rendah dan penyimpanan yang cepat. (3) Mikroorganisme dominan. Mikroba dominan pada makanan yang membusuk adalah yang memiliki waktu generasi yang pendek. Profil mikroba yang tumbuh dalam makanan dan yang ditumbuhkan dalam medium laboratorium dapat berbeda. Waktu generasi mikroba di dalam makanan umumnya lebih lama

dibandingkan dalam kaldu nutrisi. Pada kondisi penyimpanan yang sama, pertumbuhan populasi campuran mikroba dalam makanan dapat berbeda dengan pertumbuhan di dalam kaldu nutrisi. Tipe mikroba yang tumbuh dominan dalam makanan dan dalam kultur pemeliharaan pada kondisi yang sama dapat berbeda. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam pangan dapat bersifat fisik, kimia atau biologis. Mossel dalam Jay (2009) membagi faktor tersebut menjadi (a) faktor intrinsik sifat dari bahan pangan, (b) pengolahan yang menyebabkan terjadinya perubahan microflora awal akibat pengolahan, (c) faktor ekstrinsik berupa kondisi lingkungan akibat penanganan dan penyimpanan pangan, (d) faktor impisit sifat dari mikroba. Pada Bab ini dibahas kapan terjadi kerusakan pangan, mikroba dominan, indikator kerusakan pangan, dan mekanisme kerusakan serta kontaminan pada beberapa produk pangan.

2. PENYAJIAN

1. Spoilage Detection Level (SDL)

Spoilage Detection Level (SDL) atau kerusakan terjadi jika mikroba mencapai jumlah tertentu. Makanan segar dan olahan mengandung mikroorganisme jenis bakteri, khamir dan kapang yang dapat tumbuh dan berkembang biak sehingga mengakibatkan pembusukan. Makanan yang mudah ditumbuhi oleh bakteri lebih cepat rusak dibandingkan makanan yang ditumbuhi oleh khamir atau kapang. Kerusakan/pembusukan makanan terfermentasi, rerotian, asinan buah sayur lebih disebabkan oleh kapang karena makanan tersebut tidak mudah ditumbuhi oleh bakteri maupun khamir. Jumlah mikroba yang dapat menyebabkan pembusukan makanan. Untuk menghasilkan tanda-tanda pembusukan seperti: perubahan warna, bau, tekstur, pembentukan lendir, gas, dan cairan eksudat, maka mikroorganisme harus berkembang biak sampai mencapai jumlah tertentu, yang disebut Spoilage Detection Level (SDL), spoilage detection level bakteri dan khamir yaitu 10^7 cfu/gr, ml, cm² dalam pangan, pembentukan H₂S, amonia, H₂O₂ dalam pangan dihasilkan oleh mikroba pada SDL lebih rendah, pembentukan lendir dalam pangan oleh mikroba pada SDL 10^8

cfu/gr, ml, cm², makanan yang sejak awal sudah mengandung mikroorganisme dalam jumlah tinggi kemudian disimpan pada kondisi yang cocok untuk berkembang biak cepat (generation time t pendek), maka makanan tersebut membusuk lebih cepat dibanding makanan yang ditumbuhi oleh mikroorganisme dengan generation time panjang.

2. Mikroba dominan dalam pembusukan makanan

Makanan segar tanpa pengawet mengandung semua jenis mikroorganisme (bakteri, khamir dan kapang), tetapi pada saat makanan tersebut rusak/busuk ternyata hanya ditemukan satu atau dua jenis mikroorganisme saja, dan mikroba tersebut mungkin hanya terdapat dalam jumlah yang sedikit pada saat makanan masih segar. Oleh karena itu, hanya mikroba yang mempunyai generation time paling pendek pada kondisi penyimpanan yang cocok yang akan menyebabkan kerusakan makanan. Misalnya, 1 kg daging sapi yang mempunyai pH 6.0 ditemukan mengandung jumlah mikroba 10³ cfu/g yang tersusun atas 1% *Pseudomonas spp*, 11% *Micrococcus*, 13% *Brochotrix spp*, dan 75% *Staphylococcus*, Enterobacteriaceae, dan bakteri asam laktat. Setelah disimpan secara aerobik pada 20°C selama 12 hr populasi mikroba mencapai 10⁷ cfu/g dengan komposisi mikroba 99% *Pseudomonas spp* dan 1% mikroba lain. Artinya: hampir semua mikroba dapat tumbuh pada kondisi penyimpanan daging tetapi hanya *Pseudomonas spp* yang mempunyai generation time paling pendek, akibatnya walaupun pada awal penyimpanan hanya berjumlah 1% setelah 12 hari menjadi 99% sehingga *Pseudomonas* disebut bakteri dominan pada daging yang disimpan pada suhu 2°C. Jika, daging disimpan pada 2°C secara anaerobik (kemas vakum) hingga jumlah mikroba mencapai 10⁷, maka mikroba dominan yang sangat mudah tumbuh yaitu gol fakultatif anaerobik *Lactobacillus* dan atau *Leuconostoc*. Karena kondisi penyimpanan cocok untuk pertumbuhan ke dua bakteri tersebut.

3. Bakteri utama yang berperan dalam pembusukan makanan

a. Psikrotrofik: tersusun dari golongan bakteri yang mampu tumbuh pada 5°C tetapi berkembang biak cepat pada 10°-25°C. Jika makanan disimpan secara aerobik maka bakteri psikrotrof aerobik yang dominan penyebab pembusukan. Misalnya *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter*. Jika disimpan anaerobik juga dalam lemari preparasi maka bakteri anaerobik dan fakultatif anaerobik yang dominan penyebab pembusukan. Misalnya *Brochotrik spp*, *Enterococcus spp*, *Leuconostoc spp*. Jika makanan telah dipanaskan suhu rendah dan disimpan pada suhu rendah maka bakteri psikrotrofik termofilik yang dominan penyebab pembusukan. Misalnya *Bacillus sp*, *Clostridium sp*. Jika makanan disimpan pada suhu di atas 5°C (selama transportasi atau display di supermarket), maka mikroba mesofilik juga bisa tumbuh. Tetapi golongan psikrotrofik mempunyai generation time lebih cepat pada kondisi suhu 10°-15°C. Mesofilik: dapat tumbuh antara 15°-45°C, dan tumbuh cepat pada 25°-40°C.

b. Bakteri Termofilik

Bakteri yang mampu tumbuh pada suhu 40°-90°C, dengan optimum pertumbuhan pada 55°- 65°C. Misalnya fast food yang diolah dengan suhu tinggi kemudian disimpan pada 55°-60°C pada masa penjualan. Maka *Bacillus dan Clostridium* akan dominan pada makanan ini.

c. Bakteri Acidurik

Bakteri yang mampu tumbuh cepat pada makanan dengan pH <4,6. Biasanya penyebab pembusukan pada jus, acar, sosis. Homofermentatif bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*) dan Heterofermentatif bakteri asam laktat (*Pediococcus*) juga dapat menyebabkan pembusukan. Table 5.1 menyajikan jenis mikroba penting yang menyebabkan kerusakan pada komoditas makanan tertentu.

4. Indikator kerusakan makanan

Kerusakan makanan oleh mikroba disebabkan oleh: (1) pertumbuhan sel mikroba pada komponen makanan, (2) enzim ekstraseluler dan intraseluler yang bereaksi dengan komponen makanan dan mengubah sifat makanan tersebut. Hal penting yang perlu diketahui untuk menghindari kerusakan makanan adalah (1)

memprediksi waktu simpan makanan setelah produksi pada kondisi penyimpanan normal untuk makanan tersebut, (2) menentukan statis terkini terkait dengan kerusakan makanan yang sudah disimpan dalam waktu tertentu dalam upaya untuk estimasi tahapan kerusakan mikrobiologis.

Tabel 5.1. Mikroba perusak pada setiap komoditi.

Komoditi	Mikroorganisme
Sayuran	Kapang (<i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Borytis cenera</i>)
Buah-buahan	Kapang dan khamir, <i>Penicilium sp</i> , <i>Aspergillus niger</i>
Daging	Bakteri <i>Micrococcus sp</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Corynebacterium sp</i> , <i>Pseudomonas sp</i> . Kapang <i>Thamnidium elegans</i> , <i>Cladosporium herbarium</i> , <i>Mucor racemus</i> .
Ikan	<i>Pseudomonas sp</i> , <i>Microbacterium sp</i> , <i>Corynebacterium sp</i> , <i>Micrococcus sp</i> .
Telur	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Acetobacter sp</i>
Susu segar	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Micrococcus</i>
Produk susu	Mentega: <i>Pseudomonas putrefaciens</i> Keju: <i>Alcaligenes sp</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Penicillium sp</i>
Produk sereal	Biskuit: <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc sp</i>
Produk fermentasi	a. Bir: <i>Acetobacter sp</i> ("Sourness"); <i>Eyromonas anaerobia</i> ("Turbidity") b. Sauerkraut: <i>Lactobacillus cucurmeru</i> ("Slimy kraut"); <i>Torula glutinis</i> ("Pink kraut") c. Pickle: <i>Bacillus nigrificans</i> , <i>Fusarium sp</i> , <i>Penicillium sp</i>
Produk kaleng	a. Kerusakan oleh bakteri berspora = Flat Sour"; "Sulfur Strinker"; "Putrefactive" b. Kerusakan oleh bakteri non spora c. Kerusakan oleh kapang

Sumber Jay et al., 2005

Kriteria atau indikator yang digunakan yaitu nilai sensori/organoleptic, nilai mikrobiologi, dan nilai kimia. (1) Nilai sensori meliputi perubahan warna, bau, tekstur, penampilan umum. Nilai sensori ini memiliki kekurangan jika digunakan sebagai indikator tunggal. Perubahan aroma/tesktur terjadi pada tahap akhir kerusakan, bau dapat tersamarkan oleh bumi, bau yang disebabkan oleh senyawa volatile tidak terdeteksi jika terdedah ke udara, dan terdapat perbedaan penilaian organoleptic antara individu. (2) Indikator mikrobiologi dan kimia. Kriteria mikrobiologi maupun kimia secara tunggal juga tidak efektif dalam memprediksi baik umur simpan maupun status kerusakan produk. Faktor yang menentukan kerusakan makanan secara mikrobiologis meliputi tipe produk makanan, komposisi nutrisi pada makanan, metode yang digunakan selama pemrosesan, kontaminasi yang terjadi selama pemrosesan, sifat packaging yang digunakan, suhu dan waktu penyimpanan, dan kemungkinan terjadinya kesalahan pengaturan suhu penyimpanan. Indikator pemilihan berdasarkan produk atau kelompok produk yang sejenis. Syarat pemilihan indikator mikrobiologi atau kimia adalah sebagai berikut: (1) pada produk segar, indikator terdapat dalam jumlah sedikit (mikroba atau tidak ada senyawa kimia), (2) pada kondisi penyimpanan normal terhadap suhu, waktu, packaging, mikroba atau senyawa kimia indikator tersebut dapat meningkat mencapai jumlah yang tinggi, (3) pada saat terjadi kerusakan pada kondisi penyimpanan normal, indikator tersebut harus merupakan agen penyebab kerusakan yang dominan, (4) dapat terdeteksi secara cepat, (5) dapat diandalkan untuk memprediksi umur simpan dan status kerusakan, (6) kerusakan yang ditimbulkan harus memiliki keterkaitan dengan kriteria sensori/organoleptic.

Kriteria mikrobiologi beberapa produk makanan dan indikator mikrobiologisnya meliputi:

1. Daging mentah yang disimpan dingin secara aerob TPC psikrotrofik aerob, terutama Gram negative aerob.
2. Daging mentah yang disimpan dingin secara anaerob (vacuum packaged), TPC bakteri asam laktat psikrotrofik dan enterobacteriaceae, *Clostridium spp* misalnya *C. laramie* psikrotrofik.
3. Produk daging yang diproses pada suhu rendah, dikemas vakum dan disimpan pada suhu rendah. TPC bakteri asam laktat psikrotrofik dan Enterobacteriaceae, *Clostridium spp* psikrotrofik.
4. Susu segar: TPC, Gram negative batang psikrotrofik, bakteri termofilik.
5. Susu pasturisasi: TPC, bakteri psikrotrofik (Gram negative dan positif).
6. Butter: mikroorganisme lipofilik.
7. Keju cottage: psikrotrofik, terutama Gram negative batang.
8. Produk perikanan segar: Gram negative batang psikrotrofik.
9. Minuman ringan: bakteri asidurik, khamir dan kapang.
10. Salad dressing dan mayonnaise: *Lactobacillus spp* (terutama *L. fructivorans* dan khamir).

Kriteria kimia:

1. Pertumbuhan mikroba dalam makanan akan menghasilkan beragam metabolit atau produk samping yang berasosiasi dengan karakteristik kerusakan.
2. Dikembangkan metode yang sensitive untuk mengukur metabolit spesifik dalam konsentrasi sangat rendah dan sebelum kerusakan tampak dengan jelas.
3. Hasil pengukuran digunakan untuk menentukan status kerusakan makanan. Misalnya produksi H_2S , NH_3 , diasetil, dan asetonin. Bentuk bentuk kerusakan meliputi berjamur, busuk, berlendir, perubahan warna, berlendir kental seperti tali (roppiness), kerusakan fermentative, pembusukan bahan pangan perprotein (putrefaction).

5. Kerusakan pada buah dan sayuran.

Standard mutu mikrobiologi sayuran segar. Sayuran segar yang dikonsumsi dalam keadaan mentah harus diperhatikan standard mutu mikrobiologi dan organoleptiknya. Apabila sayuran segar tercemar oleh mikroba dalam jumlah yang cukup tinggi maka sayuran tersebut tidak aman untuk dikonsumsi. Standard mutu mikrobiologi meliputi total lempeng (TPC) dan mikroba patogen yaitu *E. coli*, dan *Listeria monocytogenes*. Syarat mutu cemaran mikroba yang terdapat dalam SNI untuk produk hortikultura mencakup total mikroba, bakteri coliform, *E. coli*, *Salmonella*, *S.aureus*, *Vibrio sp*, *C. perfringens*, kapang dan khamir yang terkandung di dalamnya. International Commission on Microbiological Specification for foods, merekomendasikan, sayuran yang akan dikonsumsi mentah mengandung *E. coli* kurang dari 10^3 CFU/g. *Salmonella* harus tidak ada dalam 25g sampel, dan tiga dari lima sampel yang dianalisis boleh mengandung total mikroba 10^5 - 10^6 CFU/g. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (1989) mensyaratkan sayuran yang dikonsumsi maksimum mengandung *E. coli* 10^2 CFU/g dan tidak mengandung *Salmonella*. Sayuran yang sering dikonsumsi dalam keadaan segar atau mentah sebagai lalapan atau salad rentan tercemar bakteri kolera dan disentri serta virus.

Jenis kerusakan pada buah dan sayur digolongkan dalam 2 tipe kerusakan yaitu kerusakan aktif (active spoilage) dan kerusakan pasif (passive spoilage). Kerusakan aktif disebabkan oleh mikroorganisme yang diawali dengan infeksi dan diikuti terjadinya penurunan sifat sensori. Kerusakan pasif yaitu masuknya mikroorganisme melalui kerusakan jaringan epidermis (kulit atau lapisan luar) buah sayur. Mikroorganisme juga dapat masuk ke jaringan dalam melalui bagian terbuka alami seperti lentisel, stomata, atau hidatoda. Kerusakan sayuran mentah dapat disebabkan oleh faktor fisik, reaksi antar enzim dan adanya mikroba perusak. Tipe kerusakan tergantung jenis dan varietas sayuran dan buah. Kerusakan mikrobiologis dapat disebabkan oleh aktivitas patogen tanaman dan organisme saprofit. Beberapa mikroba perusak pada sayuran antara lain *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia*

spesies, *Sclerotium rolfsii* dan *R.stolonifer*. *Mycocentrospora aceriena* dan *Phytophthora megasperma* merupakan penyebab kerusakan utama pada wortel di Prancis. Sedangkan *Botrytis cinerea* dan *Rhizoctonia carotae* menyebabkan kerusakan wortel di Inggris. *Alternaria tenuis* merupakan penyebab kerusakan pada kol yang baru dipanen.

Kontaminan yang menimbulkan penyakit berasal dari berbagai sumber yaitu organism patogen termasuk bakteri, kapang, parasit dan virus. Mikroba patogen merupakan penyebab penyakit yang relatif berubah dari waktu ke waktu dan sering kali menimbulkan kasus yang mengejutkan. Perubahan gaya hidup konsumen menuntut tersedianya produk pangan yang lebih cepat dan mudah dipersiapkan, lebih segar atau produk yang menerima proses minimal serta memenuhi persyaratan kesehatan dan gizi. Perubahan ini membuat kemampuan mikroba untuk berkembang biak dengan cepat dan beradaptasi dengan lingkungan menimbulkan masalah baru dalam system pangan.

Kontaminan pada sayuran.

Kerusakan mikrobiologi produk sayuran didukung oleh beberapa kondisi sebagai berikut. Faktor intrinsik penting yang mendukung pertumbuhan mikroba antara lain a_w dan pH. Sayuran mempunyai a_w yang tinggi mendukung pertumbuhan bakteri dan jamur. pH sayuran (kecuali tomat) berkisar 5-6, yang tidak menghambat tumbuhnya mikroba. Secara normal bakteri mengkontaminasi sayuran saat panen termasuk bakteri Gram positif dan Gram negatif. Khamir, kapang dan baketri dapat merusak sayuran, namun umumnya bakteri ditemukan dari awal kerusakan. Kerusakan mikrobiologis sangat dipengaruhi oleh kondisi lahan pertanian. Pencucian dan pembilasan dengan air dapat menurunkan jumlah mikroba pada permukaan sayur. Penambahan klorin (5-250 μ l per liter air) dapat dilakukan untuk membunuh mikroba dimana 90-280 μ l/l hanya minimal pengaruhnya pada tomat. Perendaman tomat dalam larutan chlorin 200-250 μ l/l dapat menurunkan mikroba mesofilik aerob, namun tidak berpengaruh terhadap psikrotrop atau jamur. Wortel yang dicuci dengan air mengandung 200-260 μ l/l chlorin hanya menurunkan mikroba 1 siklus log (10 kali

nya) dibandingkan dengan air tanpa chlorin. Proses minimal (cutting, slicing, chopping, dan mixing) merupakan tahapan perlakuan yang beresiko meningkatnya populasi mikroba. Beberapa contoh minimal proses sayuran (cutting corn, slicing green bean, dan chopping spinach) meningkat kandungan mikroba 1 log setelah proses. Penyimpanan dan pengangkutan merupakan tahap proses selanjutnya yang beresiko terjadinya kontaminasi. Perlakuan ekstrim sering juga dilakukan terhadap sayuran seperti pembekuan dan pengalengan. Kerusakan mikrobiologis sayuran beku disebabkan oleh suhu penyimpanan yang tidak memadai. Suhu penyimpanan tetap dijaga pada kondisi beku, namun beberapa jamur dilaporkan dapat tumbuh lambat pada suhu -5°C . Sayur yang dikalengkan umumnya dilakukan sterilisasi pada suhu 120°C . Kerusakan sayur yang dikalengkan umumnya disebabkan oleh bakteri termofilik pembentuk spora. Pengasaman tanpa terbentuknya gas (flat sour) disebabkan oleh *B. stearothermophilus* dan *B. coagulans*. Terbentuknya gas (swelling) disebabkan oleh *Cl. thermosaccharolyticum*. Bakteri patogen psikrotrof muncul karena adanya perubahan ekologi. Mikoba ini dapat tumbuh pada suhu rendah di berbagai negara subtropics, yang mungkin bisa masuk ke Indonesia melalui makanan impor. Misalnya meningkatnya gejala gastroenteritis oleh *Campylobacter* di beberapa negara bahkan di AS saat ini bakteri tersebut paling banyak ditemukan pada penderita diare mengalahkan *Salmonella* yang sejak dahulu merupakan penyebab utama gejala gastroenteritis. Beberapa sayuran yang biasa dikonsumsi mentah berpotensi merugikan kesehatan karena rentan terkontaminasi mikroba. Kontaminasi mikroba terjadi pada sayuran segar yang diambil ditingkat petani maupun pedagang seperti yang pernah ditemukan di sayuran mentah dari petani dan pedagang di Bogor. Di AS kontaminan buah dan sayuran yang menjadi perhatian adalah *Salmonella*, *Shigella*, *Entamoeba histolytica*, dan *Ascaris spp.* Kontaminasi mikroba pada sayuran bisa berasal dari penyemprotan atau pengairan dengan air yang terkontaminasi *Salmonella* dan pemupukan dengan kotoran hewan, sehingga pada sayuran seperti selada ditemukan *Salmonella*. Kontaminasi mikroba patogen pada produk pertanian terjadi pada beberapa titik mulai dari tahap

produksi, panen, pengolahan, distribusi hingga pemasaran. *Salmonella* dapat tumbuh dan memproduksi endotoksin yang dapat menyebabkan penyakit. Infeksi yang disebabkan *Salmonella* disebut Salmonellosis. Jumlah *Salmonella* yang dapat menyebabkan infeksi Salmonellosis adalah $10^5 - 10^{10}$. Salmonellosis ditandai dengan sakit perut, mual dan diare, kadang disertai demam ringan dan sakit kepala. Salmonellosis timbul setelah 8-72 jam mengkonsumsi makanan terkontaminasi. Beberapa strain *E. coli* dapat menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan dengan gejala menyerupai kolera, menyerang sel sel epithelium saluran usus dengan melakukan adhesi dan kolonisasi pada saluran usus halus serta mengeluarkan enterotoksin. Bakteri *E. coli* pathogen dapat menimbulkan sindrom kronis yaitu gastroenteritis akut pada anak-anak dan infeksi pada saluran pencernaan. Kontaminasi *E. coli* biasanya dari air yang digunakan untuk mencuci bahan makanan yang akan dikonsumsi maupun peralatan yang digunakan dalam pengolahan. Mikroba lain yang penting adalah *Listeria*. *Listeria* terdapat di tanah, feces binatang dan air. Sedangkan dalam makanan terdapat pada susu mentah, keju, daging segar dan beku, unggas, produk perikanan, buah dan sayuran. Produk makanan segar baik hewani maupun nabati mungkin mengandung *L. monocytogenes*. Bakteri ini ditemukan pada tomat, selada, seledri, kentang, lobak, tauge dan mentimun. Dari 6 spesies *Listeria* terdapat 3 spesies yang menyebabkan penyakit pada manusia yaitu *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*.

Kerusakan pada buah-buahan.

Faktor yang mendukung terjadinya kerusakan buah adalah sebagai berikut: Buah-buahan mempunyai a_w yang tinggi dan umumnya pH yang rendah (<4.4). Buah-buahan mempunyai lapisan jaringan epidermal yang tebal sebagai pelindung bagian dalam buah. Buah-buahan mempunyai kandungan asam organik yang dapat berperan sebagai antimikroba. Sumber mikroba (bakteri dan jamur) pencemar pada produk buah-buahan: udara, tanah, dan serangga. Kerusakan mikrobiologis buah-buahan sebagian besar disebabkan oleh khamir atau kapang. Kerusakan dapat juga disebabkan oleh

bakteri, seperti *Erwinia* pada pear yang rusak atau kerusakan jus jeruk oleh bakteri asam laktat. Produk olahan buah-buahan seperti jus konsentrat, jam, jelly, sirup, dan produk buah kering lebih awet karena a_w yg rendah. Pengolahan ini dikombinasi dengan pemanasan untuk membunuh jamur xerotolerant. Kerusakan bisa terjadi apabila terjadi kerusakan kemasan atau sudah dibuka oleh konsumen. Produk buah-buahan dengan perlakuan panas (buah-buahan kaleng) dilakukan dengan suhu yang lebih rendah dibandingkan sayuran, karena pH yang rendah. Suhu pada pusat kaleng berkisar 85–90°C. Sari buah dipanaskan lebih cepat pada suhu 93–100°C. Suhu tersebut cukup untuk membunuh sel vegetatif bakteri, khamir, dan kapang. Beberapa ascospora atau sclerotia kapang tahan panas, seperti: *Byssochlamys fulva*, *By. Nivea*, *Neosartorya fischeri*, dan *Talaromyces flavus*. Bakteri pembentuk spora (*Alicyclobacillus acidoterrestris*) dapat merusak sari buah yang dipasteurisasi. Bakteri ini tahan asam dan panas. Bentuk pengendalian kerusakan pada buah dan sayur disajikan pada Tabel 5.2.

Table 5.2. Pengendalian kerusakan pada sayur dan buah dapat dilakukan dengan pengawetan sebagai berikut.

Sayur	Buah
Aseptis	Aseptis
Menghilangkan mikroba pencemar	Menghilangkan mikroba pencemar.
Suhu tinggi dengan blansir	Penggunaan suhu tinggi.
Suhu rendah dengan chilling, freezing.	Penggunaan suhu rendah dengan chilling dan freesing.
Pengeringan	Pengeringan
Pengawetan dengan garam (2,25 -2,5%).	Penggunaan pengawet.
Irradiasi engan sinar Gamma.	

Mekanisme kerusakan pada buah sayur adalah sebagai berikut: Sayur dan buah mempunyai jaringan epidermis pada bagian luar yang berfungsi sebagai jaringan pelindung. Kerusakan jaringan pelindung memungkinkan masuknya mikroba sebelum panen karena infestasi serangga, atau karena gesekan. Kerusakan jaringan sesudah panen dapat terjadi karena peralatan paska panen dan pengolahan. Sekali mikroba dapat masuk ke dalam jaringan maka kerusakan akan pasti terjadi. Beberapa senyawa yang menyebabkan off flavour pada buah dan sayur disajikan pada Tabel 5.3.

Jenis-jenis kerusakan pada buah sayur yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Busuk Lunak Bakteri (Bacterial Soft Rot). Ciri kerusakan bahan jadi lunak, lembek, bau masam. Komoditi yang diserang bawang merah/putih, wortel. Jenis *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, *Clostridium*, *Bacillus spp*.

Busuk Kapang Abu-Abu (Gray Mold Rot). Ciri kerusakan miselium kapang abu-abu. Kerusakan akibat kelembaban tinggi dan suhu hangat. Komoditi yang diserang anggur, kacang kacangan, bayam. Jenis *Botrytis cinerea*, *Botrytis spp*

Busuk Lunak Rhizopus (Rhizopus Soft Rot). Ciri kerusakan lunak, lembek, kapang berbentuk kapas-kecil berbintik hitam, sporangia menutupi permukaan air. Komoditi yang diserang: anggur, strawberi, alpukat. Jenis *Rhizopus sp.*, *Rhizopus stolonifer*

Anthraxnose. Ciri kerusakan spot/bintik hitam. Komoditi yang diserang: aprikot, alpukat, pisang. Jenis *Colletotrichum lindemuthianum* (kapang).

Busuk Alternaria (alternaria rot). Ciri kerusakan bintik coklat kehijauan coklat hitam. Komoditi yang diserang: lemon, peach, tomat. Jenis *Alternaria tenuis*.

Busuk Kapang Biru (blue mold rot). Ciri kerusakan spora kapang hijau kebiruan. Komoditi yang diserang: anggur, bit, apricot. Jenis *Penicillium digitarium*.

Downey Mildew. Ciri kerusakan kapang berwarna putih seperti wol. Komoditi yang diserang: sawi/lobak. Jenis *Phytophthora*, dan *Bremia*.

Busuk Lunak Berair (Watery Soft Rot). Komoditi yang diserang seledri, kembang kol. Jenis *Sclerotinia sclerotiorum* umum pada sayuran.

Busuk Batang. Komoditi yang diserang lemon. Jenis : *Diplodia*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Fusarium*

Busuk Kapang Hitam. Ciri kerusakan masa spora hitam pekat. Komoditi yang diserang bawang merah/putih, pir, peach. Jenis *Aspergillus niger*.

Busuk Coklat (Brown Rot). Komoditi yang diserang aprikot. Jenis *Sclerotinia (Monilia fructicola)*.

Tabel 5.3. Senyawa penyebab off flavour pada buah sayur.

Produk	Mikroba penyebab	Komponen kimia
Jus apel	<i>Alcylobacillus sp.</i>	2,6-dibromophenol, 2,6-dichlorophenol.
Apel, cherries, pears.	<i>Penicillium sp.</i>	Geosmin.
Dried coconut.	<i>Eurotium sp.</i>	
Dried fruit, coffee.	<i>Bacillus subtilis.</i> <i>Berbagai kapang.</i>	2,3,5,6-tetramethylpyrazine, 2,3,5-trimethylpyrazine.
Bubur buah papaya.	BAL, <i>Penicillium sp.</i> Bakteri	2,4,6-trichloroanisol. Diacetyl, acetoin, 2,3-hydroxybutane 4-vinylguaiaicol.
Canned champignons	Actinomycetes <i>Erwinia carotovora,</i>	Methyl ester, asam lemak rantai
Potatos	<i>Clostridium scatologenes</i>	Pendek. 2-methylisoborneol. Skatole Indole, p-cresol

Busuk Hitam (Black Rot). Komoditi yang diserang wortel, bit, pir, kembang kol. Jenis *Alternaria*, *Ceratostomella*, *Physalospora*.

Busuk Kapang Merah Muda (Pink Mold Rot). Ciri kerusakan Spora Pink. Jenis *Trichothecum roseum*.

Busuk Fusarium. Komoditi yang diserang wortel, bit, pisang. Jenis *Fusarium sp.*

Busuk Kapang Hijau (Green Mold Rot). Komoditi yang diserang tomat. Jenis *Cladosporium*, *Thichoderma*.

6. Kerusakan pada daging

Daging merupakan sumber nutrisi yang sangat sesuai bagi pertumbuhan mikroba. Jaringan otot hewan hidup mengandung populasi bakteri sangat rendah mendekati steril. Sumber kontaminan pada hewan hidup: kulit, rambut, dan saluran pencernaan. Mikroorganisme pada kulit: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* berasal dari kontaminasi dari fecal dan tanah. Awalnya jaringan di bawah kulit bebas bakteri, namun selama penanganan karkas dan pengolahan daging: cemaran bakteri yang paling potensial berasal dari kulit. Berbeda dengan sapi atau kambing, babi tidak mengalami proses pengkulitan, namun melalui pembersihan bulu dan pencucian. Kontaminasi dapat terjadi selama penghilangan bulu. Penggunaan panas dapat menurunkan jumlah mikroba pada kulit. Jaringan otot segar merupakan lingkungan pertumbuhan mikroba yang baik karena didukung oleh aktivitas air tinggi, adanya glikogen, peptida, dan asam-asam amino, ion ion metal dan fosfor terlarut, pada daging, unggas, dan hasil laut yang telah membusuk ditemukan sejumlah mikroorganisme, terjadi pembusukkan apabila pada permukaan daging tumbuh bakteri pembusuk sampai 10^7 cfu/cm² (ditunjukkan dengan bau tidak sedap/off-odor). Jaringan otot sebagai media pertumbuhan mikroba, dimana apabila jumlah bakteri sdh mencapai 10^8 cfu/cm², mulai terjadi pembentukan lendir.Adanya lendir tersebut membuktikan adanya pertumbuhan bakteri dan sintesis polysaccharide. Selanjutnya lendir akan membentuk lapisan lengket di permukaan daging. Faktor lain yang mempengaruhi kerusakan

pada daging yaitu Aktivitas proteolitik dan lipolitik, DFD Meat, PSE Meat yang mengakibatkan pembusukan jaringan adipose dan pembusukan kondisi anaerobic. Daging PSE (pale, soft, and exudative) mempunyai pH yang rendah (5.1 atau lebih rendah). Daging PSE lebih lambat membusuk dibandingkan daging normal. Daging DFD (dark, firm, and dry) mempunyai pH >6.0, sehingga lebih cepat membusuk karena pertumbuhan bakteri pembusuk. Daging DFD yang disimpan vacum juga lebih cepat membusuk. pH yang tinggi dan tidak adanya glukosa dan glukosa-6-phosphate akan memberi peluang tumbuhnya *Enterobacter liquefaciens* dan *S. putrefaciens*, yang dapat berkompetisi dengan BAL normal pada daging.

Sumber mikroba pada unggas meliputi (1) jaringan internal unggas yang sehat bebas dari bakteri, (2) kulit, bulu, kaki, dan juga feces merupakan sumber kontaminan utama pada daging unggas, (3) kontaminasi silang juga bisa terjadi pada saat menggantung dan pemotongan (pengeluaran darah) unggas, (4) pada saat pencelupan pada air panas (60-63°C) dapat menurunkan jumlah bakteri pada bulu unggas, (5) pada saat pencabutan bulu (defeathering) dapat terjadi kontaminasi antar karkas maupun dari peralatan kekarkas, (6) kontaminasi silang dapat juga terjadi pada saat pengeluaran isi jeroan (evisceration), (7) pendinginan cepat setelah penanganan dapat menurunkan populasi bakteri. Penyebab kerusakan daging adalah enzimatik, oksidasi kimiawi, aktivitas mikroba (penyembelihan, pemotongan, bumbu). Mikroorganisme masuk ke dalam jaringan tubuh hewan dipengaruhi oleh faktor : Isi/muatan usus hewan pada saat proses eviserasi, metode penyembelihan dan penuntasan darah, kecepatan pendinginan, kerusakan pada kondisi aerob, kerusakan pada kondisi anaerob, kondisi fisiologis hewan sebelum disembelih.

Aktivitas mikroba selama penyimpanan. Pada awalnya daging mempunyai keragaman mikroba yang tinggi yang muncul dari dalam dan luar daging, seperti hewannya sendiri, lingkungan, ingredient yang digunakan pada produk daging, tangan pekerja, dan permukaan fasilitas yang kontak dengan daging. Perbedaan dari keragaman daging tergantung pada jenis hewan dan lingkungan

penanganan, namun karakteristik mikroba pembusuk hampir sama. Selama pemasaran umumnya produk daging disimpan di dalam referigerator. Jenis mikroba yang sering ditemukan pada saat awal penyimpanan adalah *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Moraxella*, atau *Acinetobacter*, atau *Brochothrix thermosphacta*. *Pseudomonas* dapat berkompetisi dengan baik pada daging yang disimpan dingin dan kondisi aerobik. *Pseudomonas* juga dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH daging (5.5 – 7.0). *Moraxella* dan *Acinetobacter* kurang dapat berkompetisi pada suhu referigerator dan pada kisaran pH daging. Mikrobia pembusuk aerobik dapat ditekan pertumbuhannya dengan pengemasan vacuum, namun bakteri anaerobik akan dapat tumbuh. Pada kondisi anaerobik BAL dan *B. thermosphacta* dapat mendominasi pertumbuhan. BAL dapat tumbuh pada kondisi anaerobik dan pH daging, namun *B. thermosphacta* tidak bisa tumbuh pada pH < 5.8. *Clostridium laramie* dapat tumbuh pada suhu 0°C atau lebih rendah. *C. botulinum* dapat tumbuh pada suhu di atas 4°C.

Kerusakan pada kondisi aerob akibat bakteri.

Lendir di permukaan. Penyebabnya adalah *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Micrococcus*. Apabila jumlah bakteri sudah mencapai 10^8 cfu/cm², mulai terjadi pembentukan lendir. Adanya lendir tersebut membuktikan adanya pertumbuhan bakteri dan sintesis polysaccharida. Selanjutnya lendir akan membentuk lapisan lengket di permukaan daging.

Perubahan warna/pigmen daging yaitu warna merah berubah menjadi hijau, coklat, abu-abu, akibat dari senyawa yang mengoksidasi (peroksida, hydrogen sulfida). Penyebab : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* penyebab warna hijau pada sosis.

Perubahan pada lemak ditandai oleh lemak oksidasi tengik (*rancid*), bakteri Lipolitik, mempercepat oksidasi tengik (aldehid-asam).

Fosforesensi disebabkan oleh *Photobacterium spp* yaitu terjadi perubahan berbagai warna permukaan daging akibat bakteri berpigmen. *Serratia marcescens* pigmen merah, *Pseudomonas*

syncyanea warna biru, *Micrococcus flavobacterium* kuning, *Chromobacterium lividum* biru kehijauan dan hitam kecoklatan.

Bau dan rasa busuk / menyimpang (*Taint*) ditandai oleh bau masam karena asam-asam volatile: format, asetat, butirrat propionat, yang disebabkan oleh *Actinomycetes* (kapang).

Kerusakan aerob akibat khamir ditandai oleh permukaan daging berlendir, terjadi proses lipolisis, bau busuk / masam, rasa busuk / masam, diskolorisasi putih, krem, pink, coklat.

Kerusakan aerobik akibat kapang ditandai dengan bergetah, lengket, berambut (putih, dll) oleh *Thamnidium chaetocladioides*, *Mucor inucedo*, *Rhizopus*, bintik hitam oleh *Cladosporium herbarum*, bintik putih oleh *Sporotrichum carnis*, *Geotrichum*, noda-noda hijau *Penicillium expansum*, *P. asperulum*, dekomposisi lemak kapang penyebab hidrolisis dan oksidasi lemak, dan bau dan rasa menyimpang *Thamnidium*. Kerusakan akibat khamir dan kapang dapat mudah dihilangkan, namun kerusakan akibat bakteri sulit dihilangkan karena sudah penetrasi ke dalam jaringan.

Kerusakan pada kondisi anaerob.

Timbul bau dan rasa masam (*souring*), kebusukan (*putrefaction*), bau menyimpang (*taint*) karena akumulasi asam lemak rantai pendek dan senyawa amina. Mikroba pembusuk pada daging didominasi oleh bakteri asam laktat apabila oksigen dihilangkan dari lingkungan. Apabila pH daging tinggi dan residu oksigen masih ada, maka mikroorganisme lain dapat tumbuh seperti: *B. thermosphacta* dan *S. putrefaciens*. Pada kondisi anaerobik terjadi penurunan pertumbuhan mikroorganisme (10^8 cfu/cm²) dibandingkan kondisi aerobik (10^9 cfu/cm²).

Kerusakan berbagai jenis daging.

Kerusakan daging segar akibat pertumbuhan *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*. BAL menyebabkan lendir, warna hijau, asam. Kerusakan pada daging kambing segar ditandai oleh perubahan hemoglobin dan myoglobin, perubahan warna, terjadi phosphorescence, timbul bintik noda. Kerusakan pada hamburger dan sosis terbentuk lendir dan rasa asam. Kerusakan pada daging hasil *cuting* terjadi perubahan warna dan bau.

Pemasakan akan membunuh sel bakteri vegetative, walaupun endospora dapat bertahan. Pembusukkan daging yang dimasak tergantung pada ketahanan mikroflora terhadap panas selama pemasakan atau terjadi kontaminasi setelah pemasakan dan tumbuh selama penyimpanan. Jenis bakteri yang dapat tumbuh adalah jenis Microcci, Streptococci, Lactobacilli, dan *B. thermosphacta*.

Pengendalian pembusukan otot daging.

Kontrol pembusukan daging dapat dilakukan antar lain sebagai berikut. Modifikasi karakteristik intrinsic (produk) atau karakteristik ekstrinsik (lingkungan penyimpanan). Umur simpan daging olahan dapat diperpanjang dengan prosedur pengolahan dan ingredien yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk. Metode untuk mengendalikan pembusukan dikatagorikan menjadi 3 strategi yang bisa digunakan secara terpisah maupun kombinasi, yaitu pencegahan kontaminasi awal, inaktivasi mikroorganisme yang ada pada produk, menggunakan kondisi penyimpanan yang mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme yang ada pada produk. Pembilasan dengan air, perlakuan dengan antimicrobial, penyimpanan suhu rendah, penyimpanan dengan atmosfer, termodifikasi dan kemasan vakum, Cook-in bag and post pasteurization (82 - 96°C selama 30 detik hingga 6 menit), dan Irradiation.

7. Kerusakan produk hasil perairan.

Penyebab kerusakan ikan adalah terjadinya proses autolisis, oksidasi, dan akitivitas bakteri. Reaksi autolisis ikan dan seafood, lebih cepat dari pada daging atau bersifat 'perishable'. Faktor yang mempengaruhi kerusakan ikan yaitu jenis ikan, kondisi ikan ketika ditangkap, jumlah kontaminan bakteri pada daging ikan, suhu penyimpanan 0 s/d -1°C, dan penggunaan antibiotik/desinfektan. Aktivitas proteolitik dan lipolitik pada produk hasil perairan terutama ikan dapat dijelaskan sebagai berikut. Pada kondisi aerobik *Pseudomonas* dapat memproduksi enzim proteolitik, namun enzim tsb diproduksi pada saat akhir fase logaritmik (proteolisis terjadi saat populasi $>10^8$ cfu/cm²). Ketengikkan karena oksidasi asam lemak tak jenuh menghasilkan senyawa aldehida, keton, dan asam

lemak rantai pendek. Selain kandungan lemak, fosfolipida dari membran jaringan otot juga sebagai sumber kaya UFA beresiko teroksidasi. Banyak mikroba pembusuk menghasilkan lipase yang mengkatalisis hidrolisis lemak. Produksi lipase akan dibatasi atau dihambat oleh adanya karbohidrat dan protein di dalam medium. Enzim lipolitik tidak diproduksi sampai karbohidrat habis dimanfaatkan. Kandungan karbohidrat pada jaringan adiposa yang rendah menyebabkan pembusukan dapat terjadi pada jumlah bakteri yang lebih rendah. Glukosa akan habis pada tingkat jumlah bakteri melebihi 10^6 cfu/cm². Jaringan adiposa mempunyai pH lebih tinggi (7.0) dibandingkan jaringan otot, sehingga banyak bakteri yang dapat tumbuh pada jaringan adiposa, seperti *Shewanella putrefaciens*. Beberapa psychrotrophic bacteria dapat tumbuh seperti *H. alvei*, *Serratia liquefaciens* dan *Lactobacillus plantarum*. Ciri spesifik ikan yang terkontaminasi mikroba yaitu bau/rasa lumpur yang disebabkan oleh *Streptomyces*.

Tabel 5.4. Ciri-Ciri kerusakan pada ikan.

Parameter	Segar	Busuk
Kulit dan warna	Cerah	Buram
Sisik	Melekat kuat.	Mudah lepas
Mata	Jernih, tidak berkerut.	Buram dan berkerut.
Daging	Keras dan lentur.	Kendur dan lunak.
Bau	Segar dank has.	Busuk dan asam.
Lendir di kulit	Tipis homogen	Banyak dan bau.
Insang	Merah terang dan mudah dipisahkan.	Coklat, lengket, dan berlendir.

Warna ikan kuning kehijauan yang disebabkan oleh *Pseudomonas flourecens*. Warna ikan kuning disebabkan oleh *Micrococcus*. Warna ikan merah pink disebabkan oleh *Sarcina*, *Micrococcus*, *Bacillus*, kapang dan khamir. warna ikan coklat disebabkan oleh khamir *Asporogenous*. Kontaminan pada ikan olahan yaitu ikan asin oleh bakteri halofilik. Ikan asap oleh kapang. Kerang oleh *Acinetobacter*, *Moroxella*, *Vibrio*. Tiram oleh *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Bakteri

Penyebab Kerusakan pada penyimpanan ikan suhu 5-10°C *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*. Pada suhu >10°C *Micrococcus*, *Bacillus*. Pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) *Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Sarcina*, *Clostridium*. Tanda tanda kerusakan pada ikan dapat dilihat pada Tabel 5.4.

8. Kerusakan pada telur

Sumber kontaminasi pada telur meliputi (cangkang), induk ayam, sarang, air pencuci, dan penanganan/pengepakan. Jumlah total mikroba dari cangkang 10^2 - 10^7 cfu/cm². Kerusakan telur segar dan selama penyimpanan dapat dilihat pada ringkasan di bawah ini. Busuk Hijau (*Green Rots*), albumen menjadi encer, berserabut hijau, yolk diselimuti bintik pink/putih mengeras, membran vitelin menebal, berwarna putih/hitam, penyebabnya *Pseudomonas fluorescens*. Busuk Hitam (*Black Rots*), kantung udaramembesar, Albumen jadi coklat kehijauan dan encer, yolk berwarna hitam.

Telur Segar	Selama telur Penyimpanan
Retak, Bocor, Buram/tidak mengkilat, Bintik kotoran/darah, Bintik terang pada kuning telur terlihat saat candling, Penyimpanan flavor.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tidak disebabkan mikroorganisme: penyusutan berat, kantung udara tambah besar, albumen menjadi encer, kuning telur (yolk) berpindah posisi pada saat candling, pH albumen tinggi (7-9). 2. Disebabkan mikroorganisme: kontaminasi cangkang, penetrasi pori menembus membran cangkang, mikroba tumbuh melalui membran yolk dan albumen, mikroba tumbuh dalam albumen mencapai yolk.

Jika dibuka bau busuk, yolk menjadi liat, bau busuk, penyebabnya *Proteus melanonogenes* dan *Aeromonas*. Busuk Merah (*Red Rots*), yolk menjadi kemerahan, albumen menjadi encer, keabuan, diselimuti warna kemerahan, penyebabnya *Serratia*. Busuk musty eggs (telur basi) ditandai dengan cangkang telur tampak bersih dan bebas dari kontaminan material asing, namun tercium bau apek/basi akibat dari terkontaminasi udara yang terserap cangkang. Busuk moldy eggs (telur bulukan) ditandai dengan jamur tampak pada cangkang/isi telur berupa titik/spot. Kapang beasal dari wadah/pengemas telur. Penyebabnya adalah *Alternaria* dan *Rhizopus*.

9. Kerusakan pada susu dan produk susu olahan.

Susu sebagai media pertumbuhan mikroba yang cocok karena didukung oleh kondisi kadar air yang tinggi, kisaran pH mendekati netral, kandungan nutrisi lengkap (laktosa, lemak, protein, mineral), berbagai senyawa nitrogen nonprotein, senyawa penghambat pertumbuhan, sumber karbon: laktosa, lemak dan protein, kandungan sitrat yang rendah tidak cukup untuk mendukung pertumbuhan, kandungan glukosa cukup untuk pertumbuhan awal mikroorganisme hidrolitik untuk dapat memanfaatkan laktosa, beberapa mikroorganisme pembusuk dapat mengoksidasi laktosa menjadi asam laktobionat (*lactobionic acid*). Tidak semua mikroba dapat memanfaatkan lemak susu sebagai sumber karbon/energy karena lemak berada dalam bentuk globula, globula dilindungi oleh membran yang terkomposisi dari glikoprotein, lipoprotein, dan fosfolipida, dan lemak dapat dimanfaatkan bila pelindung rusak. Dua jenis protein yaitu kasein dan protein whey mempunyai sifat dimana kasein dalam bentuk misel protein yang langsung dapat terdegradasi oleh proses proteolisis. Protein whey (β -laktoglobulin, α -laktoglobulin, albumin serum, dan imunoglobulin) – protein terlarut. Nitrogen nonprotein yaitu urea, peptida, dan asam amino. Susu mengandung vitamin B dan sejumlah mineral (Na, K, Ca, Mg). Trace element: Fe, Co, Mo, Cu. Orotic acid yaitu *growth stimulant* sebagai precursor metabolit untuk pirimidin. Inhibitor alami yaitu laktoferin

(glikoprotein) dan lakto peroksidase. Inhibitor lainnya seperti lisozim, imunoglobulin, dan sistem ikatan folat dan vitamin B₁₂.

Kerusakan susu diakibatkan oleh adanya aktivitas metabolisme laktosa, protein, asam lemak tak jenuh dan hidrolisis trigliserida. Beberapa kerusakan susu akibat aktivitas mikroba disajikan pada Tabel 5.5. Susu segar dingin mudah ditumbuhi oleh bakteri Gram neatif psikrotrofik yaitu *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, coliform. *Pseudomonas* memproduksi lactase (+) yang dapat menguraikan protein yang dapat mengubah citarasa. Coliform memproduksi lactase (+) memproduksi asam organic, CO₂, dan H₂ yang mengakibatkan penggumpalan, pembentukan busa, dan pengasaman. *Alcaligenes spp* memproduksi lender berupa polisakarida.

Table 5.5. Beberapa kerusakan susu dan mikroba penyebabnya.

Jenis kerusakan	Mikroba penyebab	Jenis enzim	Produk metabolit
Bitter flavor	Bakteri psikrofilik,	Protease, peptidase	Peptide
Rancid flavor	<i>Bacillus sp.</i>	Lipase	Asam lemak bebas
Coagulation	Bakteri psikrofilik	Protease	Destabilisasi kasein
Sour flavor	Bacillus sp	Glikolitik	Oksidase
Malty flavor	BAL	Polymerase	Asam laktat, asetat
Ropy texture	BAL	Esterase	3-metil butanal
Fruity flavor	Bakteri psikrofilik		EPS
			Etil ester

Sumber Jay et al. 2005

Susu segar yang tidak dingin ditumbuhi mikroba mesofilik yaitu *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, dan coliform. Mikroba penghidrolisis laktosa (*Lactococcus*) predominan yang menyebabkan penggumpalan dan pengasaman. Susu pasturisasi ditumbuhi bakteri termoduri yaitu

Micrococcus, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, spora bacillus dan *Clostridium*. Kontaminan post pasturisasi yaitu coliform, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*. Susu pasturisasi dingin memiliki masa simpan pendek karena mudah ditumbuhi bakteri kontaminan psikrotrofik yang dapat menyebabkan kerusakan seperti susu segar. Susu UHT (150°C beberapa detik) hanya ditumbuhi spora bakteri termofilik sehingga tidak rusak pada penyimpanan suhu kamar, dan dapat rusak pada suhu tinggi. Susu konsentrat mengalami pemanasan dan pengalengan selanjutnya penyimpanan pada suhu > 43°C dimana hal ini dapat merangsang spora termofilik seperti *Bacillus coagulans* yang menyebabkan koagulasi susu.

Bakteri psikrotrofik susu. Karakteristik aerobik, gram negatif, bentuk batang (Famili Pseudomonadaceae) yang terdiri dari 65 - 70% dari genus *Pseudomonas* (obligat aerob) susu yang disimpan pada suhu 3-7°C ditumbuhi oleh *P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. putida*, *P. lundensis*. Genus lain *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Aerococcus*, dan *Staphylococcus* termasuk famili Enterobacteriaceae pada susu segar yang belum dipasteurisasi dan mungkin pada kondisi psikrotropik. Inaktivasi dengan pasteurisasi. Sumber bakteri psikrotropik: tanah, air, hewan, dan tanaman. Kontaminasi melalui air pembersih peralatan, peralatan, bagian putting susu sapi, pakan sapi. Air merupakan sumber kontaminasi yang sangat penting untuk diperhatikan. Sumber utama kontaminan bakteri psikrotropik adalah tanah. Sanitasi peralatan dapat menurunkan kontaminan. Susu yang telah dipasteurisasi dapat terkontaminasi apabila bersentuhan dengan peralatan yang terkontaminasi atau udara.

Bakteri proteolitik. *P. fluorescens* umumnya menghasilkan protease pada fase akhir logaritmik atau stasioner. Protease diproduksi relatif tinggi pada suhu 5°C, namun produksi protease dapat dihambat bila susu disimpan pada suhu 2°C. *P. fragimem* produksi protease apabila oksigen terlarut 7.4 µg/mL.

Bakteri lipolitik. *P. fluorescens* juga dapat menghasilkan lipase meliputi *P. fragi* dan *P. aeruginosa*. Kerusakan membran globula lemak karena proses berlebihan dari pemompaan, agitasi, dan pembekuan.

Pengendalian kerusakan pada susu.

Pada susu segar (Raw Milk) dengan cara membatasi tingkat kontaminasi (cleaning, sanitizing, drying cows' teats and udder before milking), segera dilakukan pendinginan cepat setelah pemerahan (milking), menjaga suhu penyimpanan dingin. Bakteri psikrotropik terhambat pada suhu 2°C. Pada pasteurized milk dapat dilakukan antara lain dengan cara cleaning and sanitizing peralatan, aseptic packaging technology. Jenis bakteri yang menyebabkan kerusakan pada susu dapat digolongkan sebagai berikut.

Bakteri fermentative yang nonspore forming. Bakteri fermentatif tumbuh pada susu yang disimpan di atas suhu refrigerator. Keberadaan asam laktat merupakan indikasi susu terekpose penyimpanan suhu tinggi yang sesuai untuk pertumbuhan BAL. Susu fermentasi dapat ditumbuhi oleh BAL liar yang menyebabkan kerusakan. Kerusakan sebagian besar disebabkan oleh BAL dan kelompok Coliform. Genus bakteri asam laktat yaitu *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus*. Coliform sering merusak produk susu terfermentasi seperti cheese. Jenis Coliform yang sering menjadi perusak meliputi *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Escherichia*. Coliform kalah bersaing dengan BAL dan bakteri psikrotropik. Sumber BAL adalah kulit disekitar puting dan ambing susu sapi merupakan habitat yang baik, silage dan pakan lainnya, dan feces. Sumber Coliform yaitu kontaminasi fecal puting susu dan ambing, residu susu pada peralatan perah.

Spore forming bakteri. *B. cereus* psikrotropik hampir 80% contoh susu. Dapat tumbuh sampai lebih dari 10⁶ CFU/ml setelah 14 hari disimpan dingin (7°C). Germinasi spora terjadi segera setelah proses pasteurisasi (heat activated). *B. circulans* sebagai spoilage organism in aseptically heat treated milk. Menghasilkan asam dari laktosa menyebabkan rasa asam. *B. mycoides* juga sering ditemukan

di dalam susu. *B. stearothermophilus* merupakan bakteri tahan panas. *B. subtilis* dan *B. megaterium* diisolasi dari susu UHT.

Khamir dan kapang. Umumnya tumbuh dan menyebabkan kerusakan produk susu fermentasi. Khamir menyebabkan fruity flavor dan produksi gas. Yogurt, buttermilk, dan fresh cheese sering rusak oleh khamir. Aroma khamir/fermentasi cheddar cheese disebabkan oleh *Candida* sp. yang diikuti terbentuknya etanol, etil asetat, dan etil butirrat. Condense milk dengan a_w yang rendah. Khamir paling umum: *Kluyveromyces marxianus*, *Debaromyces hansenii*, *Candida famata*, *Candida kefyri*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Yarrowia lipolytica*, dan *Pichia* sp. Kapang umum yang dapat tumbuh dan merusak keju: *Penicillium* sp. dan kapang yang lain, seperti *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Geotricum*, dan *Hormodendrum*. Jenis kapang dari keju yang diproses: *P. roqueforti*, *P. cyclopium*, *P. viridicatum*, dan *P. crustosum*. Cheddar cheese yang dikemas vakum seperti *Cladosporium cladosporioides*, *Clad. Herbarium*, *P. commune*, *P. glabrum*, dan *Phoma* sp.

Pengendalian terhadap khamir dan kapang pada susu dan produk susu.

Khamir dan kapang biasanya dapat diisolasi dari peralatan pengolahan, peralatan pengemasan, udara, larutan garam, pada permukaan pabril (lantai, dinding, saluran ventilasi). Mencegah produk bersinggungan dengan sumber kontaminan tersebut di atas. Kurangi tingkat cemaran kemasan (mengurangi oksigen dan meningkatkan CO₂), penyimpanan dingin, penambahan anti jamur seperti sorbat, propionat, dan natamycin (pimaricin).

3. RINGKASAN

Makanan dikategorikan rusak apabila mengalami penurunan kualitas dari yang telah ditentukan. Faktor dalam menentukan kualitas makanan antara lain: warna, tekstur, citarasa yang meliputi (bau dan rasa), bentuk, dan tidak terdapat abnormalitas.

Mikroba dominan dalam pembusukan makanan adalah jika makanan segar tanpa pengawet mengandung semua jenis mikroorganisme (bakteri, khamir dan kapang), tetapi pada saat makanan tersebut rusak/busuk ternyata hanya ditemukan satu atau dua jenis mikroorganisme saja, dan mikroba tersebut mungkin hanya terdapat dalam jumlah yang sedikit pada saat makanan masih segar. Oleh karena itu, hanya mikroba yang mempunyai generation time paling pendek pada kondisi penyimpanan yang cocok yang akan menyebabkan kerusakan makanan. Bakteri utama yang berperan dalam pembusukan makanan meliputi golongan. Psikrotrofik, bakteri Thermofilik, dan bakteri Acidurik.

Sayuran segar yang dikonsumsi dalam keadaan mentah harus diperhatikan standard mutu mikrobiologi dan organoleptiknya. Jenis kerusakan pada buah dan sayur digolongkan dalam 2 tipe kerusakan yaitu kerusakan aktif (active spoilage) dan kerusakan pasif (passive spoilage). Kerusakan aktif disebabkan oleh mikroorganisme yang diawali dengan infeksi dan diikuti terjadinya penurunan sifat sensori. Kerusakan pasif yaitu masuknya mikroorganismenya melalui kerusakan jaringan epidermis (kulit atau lapisan luar) buah sayur. Buah-buahan mempunyai aw yang tinggi dan umumnya pH yang rendah (<4.4). Buah-buahan mempunyai lapisan jaringan epidermal yang tebal sebagai pelindung bagian dalam buah. Buah-buahan mempunyai kandungan asam organik yang dapat berperan sebagai antimikroba. Namun demikian, kerusakan mikrobiologis buah-buahan sebagian besar disebabkan oleh khamir atau kapang. Sumber mikroba (bakteri dan jamur) pencemar pada produk buah-buahan: udara, tanah, dan serangga.

Daging merupakan sumber nutrisi yang sangat sesuai bagi pertumbuhan mikroba. Jaringan otot hewan hidup mengandung populasi bakteri sangat rendah mendekati steril. Sumber kontaminan pada hewan hidup: kulit, rambut, dan saluran

pencernaan. Faktor yang mempengaruhi kerusakan pada daging yaitu terbentuknya lender, adanya aktivitas proteolitik dan lipolitik, DFD Meat, PSE Meat yang mengakibatkan pembusukan jaringan adiposadan pembusukan kondisi anaerobic. Kerusakan daging pada kondisi aerob dan anaerob disebabkan oleh mikroorganisme yang spesifik. Kerusakan pada kondisi anaerob ditandai dengan timbulnya bau dan rasa masam (souring), kebusukan (putrefaction), bau menyimpang (taint) karena akumulasi asam lemak rantai pendek dan senyawa amina.

Penyebab kerusakan ikan adalah terjadinya proses autolisis, oksidasi, dan akitivitas bakteri. Reaksi autolisis ikan dan seafood, lebih cepatdaripada daging atau bersifat '*perishable*'. Faktor yang mempengaruhi kerusakan ikan yaitu jenis ikan,kondisi ikan ketika ditangkap,jumlah kontaminan bakteri pada daging ikan,suhu penyimpanan 0 s/d -1°C, dan penggunaan antibiotik/desinfektan.

LATIHAN

1. Jika jumlah mikroba dalam pangan mencapai jumlah tertentu maka mengakibatkan kerusakan pangan. Ambang jumlah mikroba ini disebut:
 - a. Spoilage detection level.
 - b. jumlah mikroba tertentu.
 - c. Jumlah mikroba penyebab kerusakan.
 - d. salah semua.

2. Hanya mikroba yang mempunyai generation time paling pendek pada kondisi penyimpanan yang cocok yang akan menyebabkan kerusakan makanan. (Benar atau Salah)

3. Makanan segar tanpa pengawet mengandung semua jenis), tetapi pada saat makanan tersebut rusak/busuk ternyata hanya ditemukan satu atau dua jenis mikroorganisme saja. (Benar atau Salah).

4. Bakteri yang mampu tumbuh cepat pada makanan dengan pH <4,6 termasuk golongan bakteri.....

5. Kerusakan makanan oleh mikroba disebabkan oleh:
 - a. pertumbuhan sel mikroba pada komponen makanan,
 - b. enzim ekstraseluler dan intraseluler yang bereaksi dengan komponen makanan dan mengubah sifat makanan tersebut.
 - c. a dan b salah.
 - d. a dan b benar

6. Syarat pemilihan indicator mikrobiologi atau kimia pada kerusakan pangan antara lain:
 - a. indicator harus merupakan agen penyebab kerusakan yang predominan.
 - b. dapat terdeteksi dengan cepat.
 - c. dapat diandalkan untuk memprediksi umur siman.
 - d. benar semua.

7. Sayuran yang sering dikonsumsi dalam keadaan segar atau mentah sebagai lalapan atau salad rentan tercemar bakteri kolera dan disentri serta virus. (Benar atau Salah).

8. Pernyataan di bawah ini adalah tentang kerusakan buah dan sayur:
 - a. kerusakan aktif disebabkan oleh mikroorganisme yang diawali dengan infeksi dan diikuti penurunan sifat sensori.
 - b. kerusakan pasif yaitu masuknya mikroba melalui kerusakan jaringan epidermis.
 - c. kerusakan sayuran dapat disebabkan oleh factor fisik, reaksi antar enzim,
 - d. Benar semua

9. Kerusakan mikrobiologi produk sayuran didukung oleh kondisi factor intrinsic penting yaitu:
 - a. aw
 - b. pH
 - c. aw dan pH
 - d. struktur biologi

10. Proses kerusakan pada buah dan sayur adalah
 - a. sayur dan buah mempunyai jaringan epidermis yang berfungsi sebagai pelindung,
 - b. kerusakan epidermis menyebabkan masuknya mikroba sebelum panen karena infestasi serangga atau gesekan,
 - c. masuknya mikroba mengakibatkan kerusakan.
 - d. semua benar.

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay, et al.,2005. Modern Food microbiology.

Kunci jawaban.

- | | |
|--------------|-----------|
| 1. a. | 6. d. |
| 2. Benar. | 7. Benar. |
| 3. Benar. | 8. d. |
| 4. Asidurik. | 9. c. |
| 5. d. | 10. d |

BAB VI

PENGENDALIAN MIKROBA DALAM PANGAN

Capaian pembelajaran: mampu memahami cara mengendalikan pertumbuhan mikroba untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan dalam makanan.

1. PENDAHULUAN

Tujuan pengendalian mikroba dalam pangan adalah untuk meminimalkan jumlah mikroba di dalam pangan. Dapat dilakukan melalui beberapa metoda antara lain yaitu (1) mencegah masuknya mikroba ke dalam pangan/ mencegah kontaminasi, (2) membunuh mikroba yang ada di dalam pangan secara fisik, antara lain menggunakan pemanasan, (3) mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroba dan spora yang telah ada dalam pangan, dan (4) membunuh sel mikroba dan spora yang ada dalam pangan. Kontaminasi selama pengolahan dapat dicegah antara lain dengan melakukan proses sanitasi, menjaga lingkungan pengolahan harus bersih secara mikrobiologi, bahan baku dan bahan tambahan yang digunakan mempunyai kualitas mikrobiolog yang baik, air yang digunakan harus memenuhi standard tertentu, peralatan yang higien, kebersihan personal sesuai standard tertentu. Sanitasi bertujuan untuk memperoleh pangan dengan kandungan mikroba

seminimal mungkin, memperpanjang masa simpan, dan mencegah kemungkinan bahaya timbulnya penyakit oleh mikrobia.

Prinsip dalam metoda pengendalian mikroba akan lebih efektif jika jumlah mikroba rendah, sel mikroba dalam fase logaritmik, spora lebih resisten dari sel vegetatif mikroba terhadap metoda pengendalian yang diterapkan, sel Gram negatif lebih mudah mati dari Gram positif, bakteri, khamir, kapang, fage, dan virus mempunyai Resistensi berbeda terhadap metoda pengendalian. Pengendalian mikroba dalam pangan dapat dilakukan antara lain dengan menggunakan agensia fisik dan menggunakan agensia kimia. Agensia kimia meliputi (1) antibiotik dan antimikrobia, (2) disinfektan, sanitiser, antiseptic, (3) bahan tambahan kimia dalam pangan. Agensia kimia digunakan juga berfungsi sebagai pengawetan pangan (Food preservation), sanitasi pangan (food sanitation), kesehatan masyarakat (public health). Antibiotik dan antimikrobia berfungsi untuk (1) menghambat pertumbuhan melalui penghambatan jalur biosintesis, (2) menghambat sintesis dinding sel, (3) menghambat sintesis membran sel, (4) menghambat sintesis protein, (5) menghambat sintesis asam nukleat. Beberapa istilah dalam fungsi agensia kimia dalam makanan yaitu: Bakterisida /germisida adalah senyawa yang mematikan patogen dan non-patogen dan tidak mematikan spora. Antiseptik adalah senyawa yang menurunkan jumlah mikroba tetapi tidak merusak kulit manusia. Disinfektan adalah senyawa yang mengurangi jumlah mikroba dalam lingkungan. Bakteriostatik adalah senyawa yang tidak mematikan mikroba tetapi mikroba tidak bisa tumbuh. Sanitiser adalah senyawa yang mengurangi jumlah mikroba di dalam lingkungan dalam jumlah besar. Antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh salah satu organisme hidup untuk melawan organisme hidup yang lain.

Bahan kimia yang digunakan di dalam pangan juga berfungsi sebagai Food Additive yang meliputi: bahan kimia yang termasuk dalam daftar GRAS- generally recognized as safe, asam benzoat, asam sorbat, sulfur dioksida, propionat, ethylene dan propylene, antibiotic, Nitrat dan Nitrit, asam dan asam laktat, antioksidan.

Pada Bab ini dibahas metode untuk mencegah kontaminasi mikroba dalam makanan melalui pengendalian secara kimia, biologi, dan secara fisik, mekanisme kematian mikroba dan, efeknya terhadap bahan pangan.

2. PENYAJIAN

1. Pengendalian dengan menurunkan nilai a_w .

Metode ini bertujuan untuk mencegah atau mengurangi pertumbuhan sel vegetative dan perkecambahan dan pertumbuhan spora mikroba, mencegah produksi toksin oleh kapang dan bakteri.

Mekanisme:

Mikroba untuk pertumbuhannya memerlukan air untuk transport nutrisi, metabolisme nutrisi dan pembuangan sel sel mati. Di dalam system pangan, pangan mengandung air yang disebut sebagai total kandungan air (moisture). Air total berada dalam bentuk air bebas dan air terikat. Air terikat yaitu air yang berada dalam ikatan dengan molekul hidrofilik komponen pangan misalnya karbohidrat, protein, dan lemak, dan tidak dapat difungsikan dalam proses biologi. Oleh karena itu hanya air bebas (a_w) yang digunakan dalam metabolisme dan pertumbuhan mikroba. A_w di dalam sel sedikit lebih rendah dari a_w di luar sel (lingkungan) dengan tujuan untuk mempertahankan system turgor. Jika a_w di luar sel diturunkan, misalnya dengan cara dihilangkan atau dengan menambahkan senyawa koloidal atau senyawa hidrofilik dimana senyawa ini tidak dapat masuk ke dalam sel, maka air bebas di dalam sel akan mengalir ke luar sel dalam upaya mempertahankan kesetimbangan equilibrium. Kehilangan air bebas akan menyebabkan osmotik shock dan plasmolisis, dan mengakibatkan sel mikroba tidak tumbuh. Kehilangan air bebas sangat signifikan menghambat pertumbuhan mikroba walaupun penurunan a_w hanya 0,005. Hal ini terjadi pada mikroba yang sensitif terhadap perubahan a_w dimana sel mikroba akan mengalami dormansi atau mati. Namun demikian, beberapa mikroba mampu mengatasi plasmolisis dan memperbaiki turgor dengan cara memindahkan larutan dari luar ke dalam sel atau memetabolisme larutan yang ada di luar sel. hal ini terjadi pada mikroba yang resisten terhadap perubahan a_w .

Metode pengendalian kerusakan pangan oleh mikroba dengan penurunan a_w dapat dilakukan melalui dehidrasi alami, pengeringan mekanik, freeze drying (beku-kering), dan smoking (pengasapan). Dehidrasi alami, yaitu dengan cara memindahkan air dari dalam produk ke luar menggunakan pemanasan matahari atau panas. Misalnya untuk biji-bijian, buah, ikan, daging, susu. Dehidrasi alami merupakan proses lambat dan relatif tidak mahal. Bakteri pembusuk dan pathogen dapat tumbuh selama proses dehidrasi.

Pengeringan mekanik: Proses ini merupakan proses terkontrol dimana pengeringan dicapai dalam beberapa detik hingga jam. Misalnya tunnel drying yaitu produk dilewatkan terowongan yang berisi udara panas. Roller drying yaitu produk diletakkan di atas lapisan tipis dengan pemanas di dalamnya. Spray drying yaitu cairan disemprotkan dalam ukuran kecil yang akan kontak dengan udara panas. Tergantung pada suhu dan lamanya waktu kontak sel mikroba akan mati selama proses drying, sementara sel yang tidak mati akan mengalami injury. Tergantung pada kondisi selama penyimpanan sel mikroba akan mati pada awal proses. Spora biasanya survive dan hidup selama penyimpanan.

Efek pengeringan terhadap mikroorganisme.

Walaupun kebanyakan mikroba mati pada proses pengeringan, namun proses pengeringan tidak mempunyai efek mematikan terhadap mikroba, dan bahan terdapat beberapa mikroba yang rekovert dari proses pengeringan terutama jika kualitas makanan yang dikeringkan rendah dan proses pengeringan yang tidak benar. Bakteri memerlukan kandungan air yang relative tinggi untuk pertumbuhannya, dan khamir memerlukan sedikit kandungan air, kapang memerlukan sangat sedikit kandungan air. Karena bakteri memerlukan $a_w > 0,9$ untuk pertumbuhannya, maka bakteri tidak berperan dalam kerusakan makanan kering. Makanan dengan a_w 0,8-0,85, pembusukan disebabkan oleh fungi dan kapang dalam waktu 1-2 minggu. Pada a_w 0,75 pembusukan terhambat dan hanya sedikit mikroba penyebab pembusukan. Pada a_w 0,7 pembusukan terhambat sangat besar dan pembusukan mungkin tidak terjadi. Pada a_w 0,65 sangat sedikit mikroba yang tumbuh dan pembusukan tidak terjadi bahkan hingga waktu 2 tahun. Makanan

kering perlu diproses hingga mencapai a_w 0,65 dan 0,75 untuk dapat disimpan beberapa tahun dan paling baik adalah pada a_w 0,7. Walaupun pembusukan dapat dicegah pada $a_w < 0,65$, namun kapang dapat tumbuh lambat pada a_w 0,60-0,62. Khamir osmofilik *Zygosaccharomyces roixii* dapat tumbuh pada a_w 0,65. Masalah utama dalam makanan kering adalah kapang *Aspergillus glaucus* yang dapat tumbuh pada a_w sangat rendah.

Walaupun pengeringan dapat mematikan sebagian besar mikroba, endospore bakteri dapat bertahan hidup, demikian juga khamir, kapang, dan beberapa bakteri Gram negative dan Gram positif. Beberapa mikroba dapat dihancurkan selama blansir dan pemasakan, dan sangat jarang sekali mikroba mati oleh proses freeze drying. Kebanyakan mikroba mati selama proses freezing dari pada selama dehidrasi. Selama pembekuan terdapat 5% dan 10% air yang tersisa terikat dengan komponen lain dalam medium. Air yang tersisa tersebut dipindahkan selama proses pengeringan. Kematian atau injuri pada pengeringan disebabkan dari denaturasi pada saat masih dalam bentuk frozen yang tidak mengering. Ketika kematian terjadi selama dehidrasi, laju kematian paling tinggi pada saat awal proses pengeringan. Kulture yang berumur muda lebih sensitive terhadap pengeringan dibanding kultur yang lebih tua.

Pengeringan dapat:

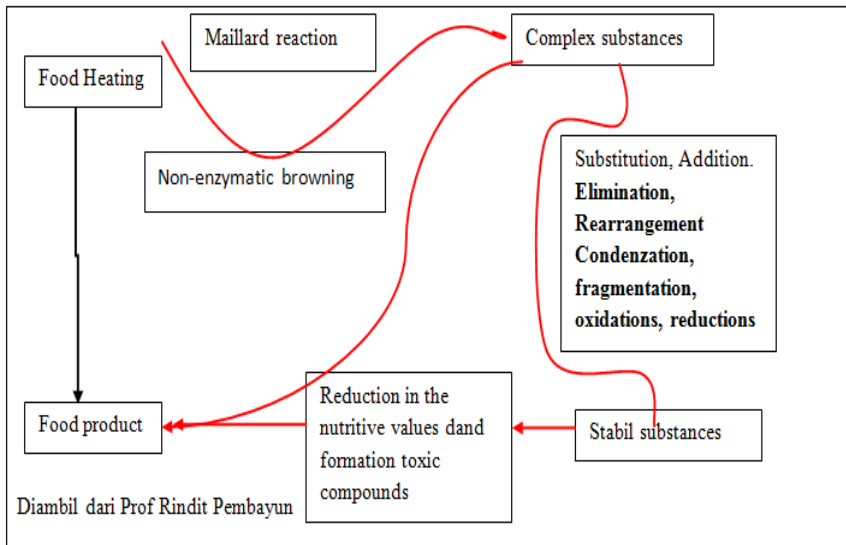
1. Menghambat pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme.

Sun drying	Dehidrasi
Tidak terkontrol	Suhu, kelembaban, aliran udara,
Memerlukan tempat luas	terkontrol
Mudah kontaminasi	Lebih ekonomis tempatnya
Biaya lebih rendah	Sanitasi terjaga
	Biaya lebih tinggi

2. Bakteri dg $a_w < 0,9$ tidak berperan dalam pembusukan pangan kering
3. Makanan dengan a_w 0,8 -0,85 dapat dibusukan oleh kapang. semakin rendah a_w kerusakan makanan dapat diperlambat.

4. Makanan dg a_w 0,65 -0,75 dapat disimpan hingga beberapa tahun.

Beberapa masalah yang sering terjadi pada bahan yang mengalami proses pengeringan seperti dirangkum pada Gambar 6.1 yaitu terjadi pengerutan makanan, Browning (Reaksi Maillard non enzimatik), Case hardening karena evaporasi dipermukaan makanan lebih cepat dibanding difusi uap air di bagian dalam makanan, seperti pada Gambar, hilangnya molekul volatil yang diinginkan (perasa, aroma). Sisi negatif proses termal dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi karsinogenik, didalamnya termasuk senyawa yang sampai sekarang menjadi perhatian, yakni amin heterosiklik. Ada sekitar 20 senyawa ini ditemukan dalam konsentrasi ppb dalam jaringan daging yang diproses dengan pemanasan.



Gambar 6.1. Beberapa perubahan kimia yang terjadi selama proses pemanasan pada makanan.

Effek cooking pemasakan terhadap citarasa (flavor)

Asam amino bereaksi dengan gula pereduksi membentuk reaksi Maillard. Asam lemak teroksidasi dan terdegradasi menimbulkan menghasilkan volatile flavor compounds yang disebut degradasi lipid. Asam amino thiamin sebagai sumber sumber citarasa daging yang timbul pada saat proses pemanasan disebut sebagai degradasi thiamin. Interaksi antara produk lipid teroksidasi dengan produk Maillard. Vitamin mengalami degradasi selama proses pemasakan yang disebut sebagai mengalami degradasi vitamin.

Perubahan senyawa citarasa pada pemasakan kering (dry cooking)

Terjadi oksidasi lipid dimana pada suhu tinggi meningkatkan proses oksidasi dalam daging. Pemanggangan/penyangraian (roasting) pada suhu 200°C selama 12 menit > dari penggorengan (frying) pada 240°C selama 4 menit. Senyawa volatile yang ditimbulkan oleh oksidasi lipid antara lain pentanal, hexanal, 2-hexanal, heptanal, benzaldehid, oktanal, nonanal. Kecenderungan untuk timbulnya hexanal yaitu roasted > microwaved > fried > grilled. Hexanal adalah senyawa yang utama dominan dalam profil citarasa karena senyawa ini dapat dihasilkan dari asam oleic, asam lonileic, dan asam arakidonik, dan melalui degradasi dari senyawa tidak jenuh seperti 2,4-dekadienal. Oksidasi lipid meningkatkan jumlah radikal bebas yang menyerang asal lemak yang mudah diserang lainnya favoring sintesis heptanal, oktanal, dan nonanal.

Produk makanan dengan kandungan air sedang (intermediate-moisture foods/IMF).

IMF adalah produk dengan karakteristik kandungan airnya 15-50% dan aw 0,60-0,85. Produk IMF stabil pada suhu ruang selama beberapa waktu. Produk IMF mempunyai aw rendah dan hal ini dapat dicapai dengan penarikan air melalui proses desorpsi, adsorpsi, dan penambahan bahan yang diizinkan seperti garam dan gula. Produk IMF tidak hanya dicirikan oleh kandungan airnya 0,60-0,85, namun juga oleh adanya penggunaan bahan tambahan seperti gliserol, glikol, sorbitol, sukrosa, sebagai bahan humektan dan kandungan fungisida seperti sorbat dan benzoate. Yang tergolong dalam produk IMF disajikan pada Tabel 6.1. Kisaran a_w produk IMF

tidak memungkinkan bakteri Gram negative bisa berkembang biak. Disamping efek penghambatan yang disebabkan oleh rendahnya a_w , juga adanya senyawa antimikrobia yang dihasilkan dari adanya interaksi antara pH, oksidasi/reduksi (Eh), penambahan bahan pengawet, adanya kompetisi mikroba, umumnya penyimpanan pada suhu rendah, dan pasturisasi atau proses pemanasan lain yang diberikan selama proses pembuatan produk IMF. Penghitungan a_w dapat mengikuti rumus hukum Raoult sebagai berikut:

$$a_w = \frac{\text{mole } H_2O}{\text{mol } H_2O + \text{mol laru tan}}$$

Contoh: 1L air mengandung 55,5 mol. Anggap bahwa air adalah air murni.

Maka:

$$a_w = \frac{55,5}{55,2+0} = 1,00$$

Jika 1 mol sukrosa ditambahkan, maka:

$$a_w = \frac{55,5}{55,5+1} = 0,98$$

Tabel 6.1. Produk pangan dengan kandungan air sedang (IMF/intermediate moisture foods).

Produk pangan	Kisaran a_w
Buah kering	0,6-0,75
Cake dan pastry	0,6-0,9
Makanan beku	0,6-0,9
Gula, sirup	0,6-0,75
Permen	0,6-0,65
Sereal	0,65-0,75
Madu	0,75
Jus buah konsentrat	0,79-0,84
Jam	0,8-0,91
Fermentasi sosis	0,83-0,87

Sumber Jay et al., 2005

Freezy drying, penggunaan metode ini mempunyai keuntungan terhadap daya terima kualitas produk oleh konsumen dibandingkan dengan metode dehidrasi dan metode pengeringan mekanik. Namun biayanya cukup besar. metode ini digunakan untuk produk cair dan padat, seperti buah, sayur, teh, kopi, daging dan ikan. Proses freeze drying diawali dengan pembekuan produk dimana paling baik pada suhu rendah dengan waktu lama, kemudian produk yang telah membeku dipaparkan terhadap kondisi vakum. Molekul air akan berpindah dari produk makanan dengan cara sublimasi yaitu padat ke gas sehingga tanpa merusak bentuk dan ukuran produk. Sel mikroba yang telah terpapar pada dua proses yaitu pembekuan dan pengeringan akan mengalami penurunan daya hidup dan mengalami injury. Selama penyimpanan suhu tinggi dan dengan adanya oksigen maka sel akan mati cepat. Spora tidak terpengaruh oleh proses freeze drying. **Smoking**, metode smoking yaitu daging atau ikan dipaparkan terhadap panas rendah dan asap dengan tujuan pemasakan dan menyimpan asap pada permukaan produk. Proses pemanasan akan memindahkan air dari produk dan akibatnya menurunkan nilai a_w produk. Sementara itu proses panas akan membunuh mikroba. Mikroba yang bertahan hidup akan dikendalikan pertumbuhannya oleh A_w produk yang rendah dan berbagai senyawa antimikroba yang berasal dari asap.

2. Pengendalian dengan Modified Atmosphere

Mengubah/memodifikasi komposisi udara di dalam kemasan. MAP dapat dicapai melalui pengemasan produk dengan kemasan vakum atau mem-flushing /menyempatkan gas ke dalam kemasan dengan satu jenis gas atau campuran gas. Mengapa Modified atmosphere? Karena selama penyimpanan, gas di dalam atmosfer kemasan akan berubah yang diakibatkan oleh hasil metabolisme produk dan mikrobia, dan juga adanya permeabilitas gas dari udara luar ke dalam kemasan melalui material kemasan. MAP merupakan salah satu upaya untuk mengawetkan produk pangan. Terdapat 3 istilah dalam kaitannya dengan metode pengendalian modified atmosphere.

- (1). Controlled atmosphere packaging (MAP). Dalam MAP komposisi gas dalam kemasan diubah dan konsentrasi gas dikontrol secara kontinyu. MAP cukup Mahal. MAP dapat digunakan untuk menyimpan buah dan sayuran dalam waktu yang lama.
- (2). Modified atmosphere packaging (MAP). Produk dikemas menggunakan bahan kemas high gas-barrier (tahan terhadap permeasi gas). Udara di dalam kemasan dikeluarkan kemudian diganti dengan gas tertentu atau kombinasi beberapa gas. Kemasan di tutup (sealed)
- (3). Vacuum packaging (kemas vakum). Penghilangan udara dari dalam kemasan

Tujuan MAP

(1) Mengontrol dan mengurangi pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan ada di dalam produk pangan. (2) Membantu menghambat kerja enzim dan respirasi produk segar. (3) Pertumbuhan mikroba arobik (kapang, khamir, bakteri) dapat dihambat dalam kemas vakum atau kemas yang diisi dengan 100% CO₂, 100% N₂ atau campuran CO₂ dan N₂. Tetapi bakteri anaerobik dan anaerobik fakultatif dapat tumbuh.

Mekanisme antimikrobia metode MAP. Antimikroba MAP dihasilkan oleh adanya perubahan reaksi potensial oksidasi-reduksi (Eh) produk dalam kemasan, dan konsentrasi CO₂. Sedangkan mikroba aerobik dan anaerobik mempunyai kebutuhan Eh tertentu untuk pertumbuhannya. Bakteri anaerobik fakultatif mempunyai kisaran Eh yang luas dalam pertumbuhannya. Walaupun gas di dalam kemasan telah dimodifikasi baik hanya berisi CO₂ atau N₂ atau campuran keduanya, dan tanpa O₂. Oksigen yang terdapat dalam sel jaringan buah/sayuran akan menyebabkan mikroba aerobik untuk tumbuh, kemudian menghasilkan CO₂. Disamping itu, senyawa tereduksi alami dalam produk misalnya gugus -SH dalam makanan kaya protein, atau asam askorbat, dan gula tereduksi dalam buah dan sayuran, dapat mengubah Eh produk dan mendorong pertumbuhan mikroba anaerobik dan anaerobik fakultatif. Kesimpulannya adalah kontrol Eh hanya efektif untuk

mengendalikan pertumbuhan mikroba aerobik. Jika CO₂ digunakan dalam konsentrasi tinggi (20-100%) sendiri atau dikombinasikan dengan N₂ dan atau O₂ maka masa simpan produk akan meningkat, karena laju pertumbuhan mikroba yang menurun. Hal ini disebabkan oleh penetrasi CO₂ ke dalam sel secara cepat, perubahan permeabilitas sel, larutnya CO₂ menjadi asam karbonat (H₂CO₂) di dalam sel dan menurunnya pH dalam sel, gangguan kerja enzim dalam oleh oleh CO₂. yang kesemuanya menghambat pertumbuhan mikroba. Konsentrasi CO₂ yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba adalah pada 10% dan akan makin tinggi konsentrasi CO₂ makin besar penghambatan. Tetapi makin tinggi CO₂ dapat mendorong pertumbuhan bakteri patogen *Clostridium botulinum*.

Efek CO₂ pada mikroorganisme.

Jika mikroorganisme dipapar pada CO₂ pada konsentrasi ≥ 10% maka beberapa hal akan terjadi sebagai berikut:

1. Aktivitas penghambatan CO₂ meningkat pada suhu inkubasi yang menurun. Hal ini karena kelarutan CO₂ makin besar pada suhu rendah, dan penambahan CO₂ menyebabkan kondisi dibawah optimum pertumbuhan. pada level 1 Atm, 100 mL air akan menyerap 88 mL CO₂ pada suhu 20°C tetapi hanya 36 mL terserap pada suhu 60°C.
2. Penghambatan CO₂ meningkat pada pH rendah pada kisaran pH asam. Penggunaan CO₂ lebih efektif untuk produk daging merah dibanding produk ikan. Pengemasan vakum daging merah pada pH > 6.0 adalah tidak efektif. Shelf life ikan dikemas vakum lebih pendek disebabkan oleh adanya pertumbuhan *Photobacterium phosphoreum* dan *Shewanella putrefaciens*.
3. Umumnya bakteri Gram negative lebih sensitive terhadap penghambatan oleh CO₂ dari bakteri Gram positif, dan golongan pseudomonad lebih sensitive dan golongan clostridia lebih resisten. Pada daging yang disimpan dengan CO₂ terjadi pergantian suksesi pertumbuhan mikroba dari Gram negative dominan dalam daging segar menjadi Gram positif secara eksklusif.

4. Kedua pertumbuhan pada fase Lag dan logaritmik terhambat.
5. CO₂ bertekanan mempunyai efek antimikrobia yang lebih baik dari tanpa tekanan, dan tekanan pada 6–30 MPa dapat menghancurkan bakteri dan fungi pada kondisi tekanan yang sesuai. Kematian mikroba terjadi pada saat tekanan dibebaskan secara tiba-tiba.

Mekanisme aksi CO₂ menghambat mikroorganisme dapat dijelaskan dengan dua hal yaitu CO₂ memblokir metabolisme *Pseudomonas aeruginosa* dan menghambat aktivitas enzim dekarboksilasi. CO₂ berpengaruh pada permeabilitas membran sel. Pada tekanan 1 Atm CO₂, germinasi spora *Clostridium sporogenes* dan endospora *C. perfringens* menjadi aktif, sedangkan germinasi spora *B. cereus* terhambat. Aktivitas CO₂ lebih terstimulasi pada kondisi pH rendah dari pH tinggi. Penghambatan CO₂ disebabkan oleh akumulasi di dalam bilayer membran lipid yang mengakibatkan meningkatnya fluiditas CO₂. Sebaliknya, CO₂ terlarut dalam bentuk asam karbonat, maka timbul (HCO⁻³) sebagai produk terdisosiasi dan oleh karena itu dapat menyebabkan perubahan permeabilitas sel. Ketika larut dalam air, maka CO₂ menghasilkan sebagai berikut: $CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^- \rightarrow 2H + CO_3^{2-}$

3. Pengendalian dengan menurunkan pH

Penggunaan bahan kimia untuk mencegah atau memperlambat pembusukan makanan. Walaupun banyak bahan kimia yang berpotensi sebagai pengawetan makanan, namun hanya beberapa senyawa kimia yang diperbolehkan di dalam produk makanan. Hal ini karena adanya peraturan penggunaan bahan kimia yang berkaitan dengan keamanan pangan. Disamping itu, tidak semua bahan kimia yang mempunyai sifat antimikroba secara *in vitro* akan mempunyai sifat yang sama jika ditambahkan ke dalam makanan. Senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai pengawet makanan tergolong dalam bahan yang aman atau generally recognized as safe (GRAS). Bahan kimia yang tergolong dalam GRAS disajikan dalam Tabel 6.2. Mikroba tumbuh pada kisaran pH tertentu

dan jika berada pada pH rendah dibawah pH pertumbuhannya maka mikroba akan mati. Asam organik dapat digunakan untuk menurunkan pH, disamping juga bermanfaat sebagai penambah citarasa produk makanan. Penambahan asam organik di dalam produk bahan dapat dilakukan dalam tiga cara yaitu: terdapat secara alami di dalam produk seperti asam sitrat dalam buah jeruk, asam benzoate pada buah jenis kanberi, asam sorbet pada buah jenis strowberi. Asam laktat, asam asetat, asam propionate dihasilkan dari proses fermentasi pangan menggunakan biakan yang aman.

Tabel 6.2. Bahan kimia yang tergolong GRAS sebagai pengawet makanan.

Bahan pengawet	Toleransi maksimum (%)	Organisme terpengaruh	Produk makanan
Asam propionate	0,32	Kapang	Rerotian, keju
Asam sorbat	0,2	Kapang	Sirup, jeli, salad,
Asam benzoate	0,1	Khamir dan kapang.	cake.
Paraben	0,1	Khamir dan kapang.	Margarin, asinan, saus tomat.
SO ₂ /sulfit	200-300ppm.	Insekta, mikroba.	Rerotian, asinan,
Ethylene oksida/ propilen oksida	700 ppm	Khamir dan kapang.	minuman.
Sodium diasetat	0,32	Kapang	Molase, buah kering, jus jeruk.
Nisin	1	Laktik, clostridia	Fimigan untuk rempah rempah.
Asam dehidroacetat	65 ppm	Insekta	Roti
Sodium nitrit	120 ppm	Clostridia	Keju pasturisasi.
Sodium laktat	≥ 4,8	Bakteri	Pestisida pada strowberi.
Ethyl format	15-220 ppm	Khamir dan kapang	Kuring daging. Daging setengah olah
			Kacang kacangan, buah kering

Sumber Jay et al., 2005.

Beberapa asam juga ditambahkan ke dalam produk dengan tujuan menurunkan pH seperti pada pembuatan minuman. Jenis asam yang boleh ditambahkan ke dalam produk pangan yaitu: asam propionate, asam laktat, asam sorbat, asam benzoat, dan dalam bentuk garamnya, serta dalam bentuk derivatnya seperti paraben derivate asam benzoate. Tujuan metode ini adalah menurunkan pH produk menggunakan asam lemah dalam upaya menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba. Pada saat pH makanan turun <5 maka mikroba akan mati. Tetapi penurunan pH tidak bisa digunakan untuk tujuan membunuh mikroba dalam pangan karena laju kematian mikroba tidak bisa diukur secara akurat seperti pada proses pemanasan.

Jenis asam organik yang digunakan untuk menurunkan Ph makanan.

Efektivitas asam organik lemah sebagai antimikroba tergantung pada nilai pKa nya. Asam dengan nilai pKa tinggi dan jumlah molekul yg tidak terdisosiasi makin besar akan lebih efektif fungsi antimikrobanya. Efektivitas asam asetat lebih tinggi $>$ propionat $>$ laktat $>$ sitrat (paling kurang efektif). Perbedaan sifat lipofilik asam organik lemak juga berpengaruh pada efektivitasnya sbg antimikroba karena berkaitan dengan mudah tidaknya berdifusi ke dalam sel membran. Asam asetat dan propionat lebih lipofilik dari laktat sehingga lebih mudah menembus dinding sel dan akibatnya lebih efektif sbg antimikroba. Asam Sitrat, karena tidak lipofilik, dapat menembus dinding sel melalui transport sitar (difusi sitrat), dan akibatnya kurang efektif sebagai antimikroba dibanding asam yang bersifat lipofilik. Penggunaan asam organik lemah dalam bentuk garamnya kurang efektif sbg antimikroba, karena mikroba dapat memetabolisme bentuk anion asam lemah misalnya bentuk anion laktat, asetat, sitrat. Penggunaan asam lemak secara bersamaan menghasilkan efektivitas yang lebih baik. Misalnya asam asetat dan asam laktat, atau propionat dan sorbat, atau benzoat dan nisin.

Efeknya pada produk pangan.

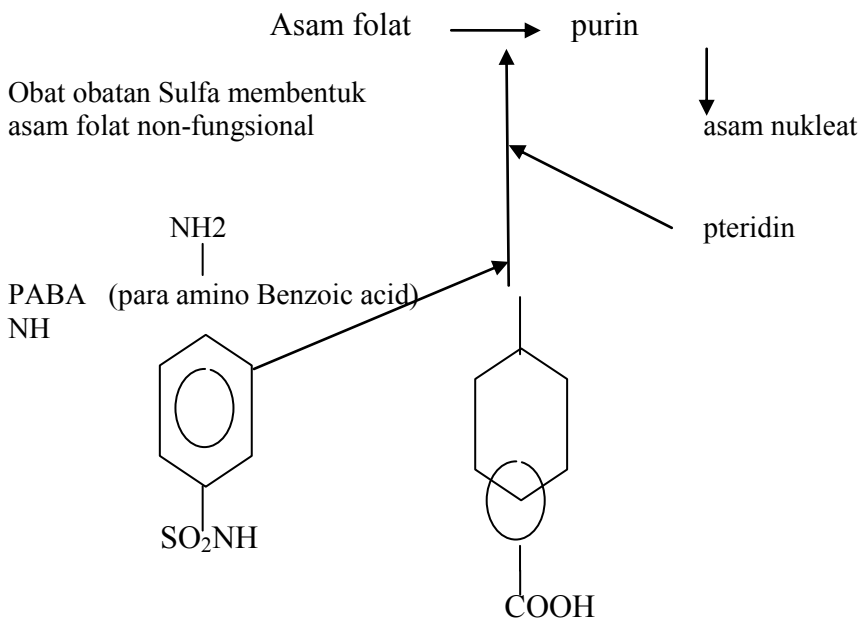
pH produk pangan berkisar antara 3 (jeruk) – 9 (putih telur). Asam organik lemah lebih efektif sebagai antimikroba dalam makanan dengan pH rendah. Komponen dalam produk dapat menurunkan efektivitas antimikrobia asam organik karena aktivitas buffering. Nutrisi dalam produk pangan dapat membantu menyembuhkan sel injury yang diakibatkan oleh perlakuan asam.

Efeknya pada mikroba

Setiap mikroba mempunyai batas limit pH terendah yang masih memungkinkan untuk pertumbuhan. Bakteri Gram negatif lebih sensitif terhadap pH rendah dibanding Gram positif, khamir dan kapang paling sensitif. Bakteri fermentatif lebih resisten terhadap pH rendah karena mampu beradaptasi dengan lingkungan luar pH rendah. Sifat antibakteri asam organik meningkat pada kondisi panas, a_w rendah, dan penyimpanan dingin. Sebaliknya akan menurun jika jumlah mikroba dalam pangan tinggi, terdapat berbagai jenis mikroba dalam pangan, bila salah satu jenis mikroba mampu memetabolisme asam organik yang digunakan, maka jenis mikroba yang lain akan tumbuh karena konsentrasi asam organik menurun dan efektivitasnya menurun pula. Khamir dan kapang lebih sensitif terhadap asam propionat dan sorbat. Bakteri sensitif terhadap asam asetat. Spora bakteri dalam produk pangan dengan pH rendah akan mudah mati dengan adanya perlakuan pemanasan. Spora bakteri tidak tumbuh pada produk pangan dengan A_w minimal pertumbuhannya. Senyawa NO_2 lebih efektif membunuh spora jika berada dalam produk dengan pH minimal untuk pertumbuhannya. Dimana, (1) mikroba akan tumbuh pada kisaran pH tertentu dan jika berada pada pH rendah (dibawah pH pertumbuhannya) maka mikroba akan mati. (2) Asam organik dapat digunakan untuk menurunkan pH. Disamping juga bermanfaat sebagai penambah citarasa produk makanan. (3) Jumlah asam organik yang ditambahkan harus mengikuti peraturan pemerintah yang berlaku. Faktor faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan agensia kimia untuk mikroba antara lain yaitu konsentrasi senyawa kimia, waktu kontak, suhu, komponen aktif bahan kimia, mekanisme,

kemudahan mendapatkannya, dan memperhatikan instruksi penggunaannya.

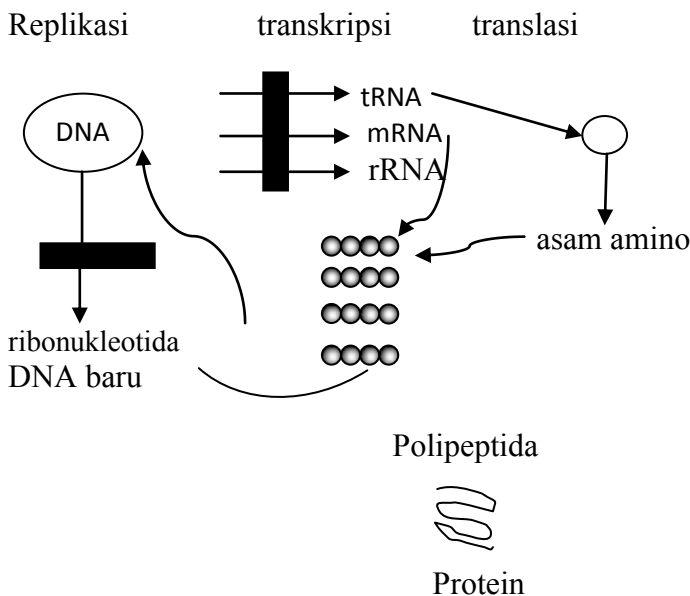
Mekanisme. Bagaimana senyawa kimia berpengaruh pada mikroba yaitu dengan cara yang ditunjukkan pada diagram di bawah ini yaitu menghambat pertumbuhan mikroba, merusak atau menghalangi sintesis dinding sel, merusak/menghalangi membran sel, mengikat makromolekul, menghalangi sintesis esensial DNA, RNA, protein. Senyawa penghambat pertumbuhan antara lain seperti dijelaskan dengan diagram di bawah ini:



Sulfonamida (obat sulfa) mebagai senyawa penghambat proses metabolisme dalam sel mikroba, atau disebut senyawa antimetabolik. Mikroba memerlukan asam folat untuk mensintesa purin dan menghasilkan asam nukleat. dimana asam nukleat ini diperlukan dalam penyusunan dtruktur DNA dan pertumbuhan sel. Sulfoamida menghambat pembentukan asam folat dan mengakibatkan terganggunya proses pertumbuhan sel.

Penghambatan dinding sel. Penisilin berpengaruh pada perlekatan dinding sel sehingga berpengaruh pada pertumbuhan sel. Senyawa lain seperti cephalosporin, novobiocin, cycloserine, bacitracin, vancomycin. Penghambatan dinding sel membrane misalnya Polymyxin mencegah senyawa untuk keluar masuk dinding sel membran. Tyrothricin, amphotericin mencegah sintesis protein. Actinomycin, Rifamycin mencegah transkripsi. Chloramphenicol, tetracyclin, streptomycin mencegah translasi. Amitomycin, actinomycin mencegah replikasi. Namun antibiotika memiliki problem antara lain menyebabkan beberapa mikroba resisten, alergi pada beberapa orang, dan dapat mematikan kultur starter.

Sintesis protein



Mekanisme asam lemah sebagai antimikroba untuk mengendalikan kerusakan pangan.

Sifat antimikrobia asam lemah diakibatkan dari penggabungan asam lemah dengan molekulnya yang terdisosiasi dan ion yang tidak terdisosiasi. Mikroba di dalam produk pangan akan selalu menjaga pH sitoplasmanya pada kisaran pH 6,5 - 7,0.

Penurunan pH 0,1 unit saja dari setiap penurunan 1-unit pH diluar sel dapat mengakibatkan kerusakan sel mikroba. Ketika asam lemah organik ditambahkan ke dalam produk pangan, tergantung dari pH produk pangan, nilai pKa asam organik yang ditambahkan, dan suhu produk, maka sebagian molekul asam organik tersebut akan terdisosiasi sementara sebagian molekul yang lain tidak terdisosiasi. Hubungan pH produk dengan kerusakan sel mikroba oleh asam organik. Jika pH produk normal (5 - 8), Jika pH produk <5. Pada produk pangan dengan pH 5-8, molekul asam organik akan terdisosiasi dan menghasilkan H⁺ yang mengakibatkan H⁺ dalam produk meningkat. Meningkatnya H⁺ dalam produk mempengaruhi gradien proton transmembran sel mikroba. Untuk mengatasi hal ini, sel mikroba mengeluarkan proton yang akan mengakibatkan energi dlm sel menurun dan pH internal sel juga menurun. Meningkatnya konsentrasi ion H⁺ dalam produk pangan juga mempengaruhi fungsi sel secara keseluruhan, Karena semua bagian sel yaitu membran sel, dinding sel, dinding membran sel, dan sitoplasma sel terpapar pada ion H⁺. Jika pH produk <5 maka sebagian besar molekul asam organik tidak terdisosiasi dan bersifat lipofilik (kecuali asam sitrat). Asam organik yang bersifat lipofilik akan mudah menembus dinding sel mikroba (mengandung lipoprotein) karena konsentrasi diluar sel lebih tinggi. Akibatnya pH internal sel lebih tinggi dari pKa asam itu sendiri, sehingga asam organik akan terdisosiasi dan membebaskan proton dan anion. Beberapa anion seperti asetat dan laktat akan digunakan sendiri oleh mikroba sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Tetapi jika anion tersebut tidak digunakan/ dimetabolisme, maka akan dikeluarkan dari dalam sel. Jika pH produk <5 maka sebagian besar molekul asam organik tidak terdisosiasi dan bersifat lipofilik (kecuali asam sitrat). Asam organik yang bersifat lipofilik akan mudah menembus dinding sel mikroba (mengandung lipoprotein) karena konsentrasi diluar sel lebih tinggi. Akibatnya pH internal sel lebih tinggi dari pKa asam itu sendiri, sehingga asam organik akan terdisosiasi dan membebaskan proton dan anion. Beberapa anion seperti asetat dan laktat akan digunakan sendiri oleh mikroba sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Tetapi jika anion tersebut tidak digunakan/ dimetabolisme, maka

akan dikeluarkan dari dalam sel. Di lain pihak, adanya proton H^+ akan menurunkan pH internal sel dan mengganggu kesetimbangan ion H^+ di dalam dan di luar sel. Untuk mengatasi hal ini sel mikroba memompa keluar ion H^+ yang memerlukan energi. Jika pH internal sel sangat rendah (<4,5) akan diperlukan energi yang lebih besar sehingga kemungkinan sel tidak mampu menyediakannya. Hal ini mengakibatkan pH internal sel drop dan mengakibatkan gangguan gradien pH di dalam dan luar sel, gangguan struktur dan fungsi sel, nutrisi transport terganggu, produksi energi terganggu dan akhirnya pertumbuhan terganggu.

Terhadap spora, pH rendah menyebabkan perubahan lapisan dinding yang menyelubungi spora karena akan berikatan dengan ion H^+ . Hal ini mengakibatkan ketahanan spora terhadap panas atau a_w menurun.

Penggunaan asam asetat dan asam laktat

Asam asetat dan asam laktat adalah jenis asam yang paling sering digunakan sebagai pengawet makanan. Hal ini karena kedua asam tersebut ada di dalam makanan sebagai hasil proses fermentasi oleh bakteri asam laktat. Misalnya asinan, sauerkraut, dan yogurt. Efek antimikroba yang ditimbulkan oleh asam disebabkan oleh dua hal yaitu penurunan pH dibawah pH optimum pertumbuhan mikroba, dan penghambatan metabolisme oleh molekul asam undissosiasi. Untuk menentukan banyaknya asam organik dalam makanan maka penghitungan asam teritrasi lebih baik daripada pengukuran pH. Nilai pH adalah jumlah konsentrasi ion hydrogen, dan asam organik tidak terionisasi semua. Pengukuran asam teritrasi adalah menghitung jumlah asam yang dapat bereaksi dengan jumlah basa yang diketahui. Misalnya nilai asam teritrasi dari sauerkraut adalah indikator jumlah asam yang terdapat dalam produk, lebih baik dibanding pH. Asam laktat berfungsi sebagai permeabiliser membrane luar bakteri Gram- dan oleh karena itu berperan sebagai potensiator antimikroba yang lain. Sebagai asam cuka dengan konsentrasi 5 -10% asam cuka, atau dalam bentuk garam sodium asetat atau calcium asetat 25%. Mekanisme penghambatan melalui

netralisasi gradient elektrokimia antara membran sel, dan denaturasi/merusakkan protein di dalam sel. Asam laktat digunakan dalam bentuk garam sodium laktat atau potasium laktat dengan konsentrasi hingga 2%, biasanya untuk minuman. Kurang Efektif digunakan untuk menghambat khamir dan kapang. Mekanisme melalui menetralkan gradien proton membran sel, dan garam sodium laktat dapat menurunkan a_w .

Asam propionat

Asam propionate adalah asam organik tiga karbon dengan rumus molekul $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$. Asam propionate dan garam dengan kalsium, dan sodium diperbolehkan digunakan dalam produk bakery, cake, dan keju untuk menghambat pertumbuhan kapang. Mode antimikroba yang ditimbulkan asam propionate adalah sama seperti yang dihasilkan oleh asam sorbat dan benzoate. pK asam propionate adalah 4,87 dan pada pH 4,0 80% dari senyawa tidak terdisosiasi, sedangkan pada pH 6,0 hanya 6,7% yang tersisa tidak terdisosiasi. Molekul tidak terdisosiasi asam lipofilik adalah sebagai aktivitas antimikrobiana. Digunakan dalam bentuk garam kalsium propionat atau sodium propionat konsentrasi 1000-2000 ppm (0,1-0,2%). Kurang efektif menghambat khamir pada konsentrasi yang direkomendasikan untuk pangan. Mekanisme melalui pengasaman sitoplasma sel, dan merusak stabilitas gradien proton sel membrane.

Asam sitrat

Digunakan dalam bentuk asam sitrat 1%. Mekanisme: Kemampuannya mengkelat kation berdivalensi. Namun komponen dalam produk pangan juga banyak mengandung kation berdivalensi yang dapat menetralkan efek asam sehingga menjadi kurang efektif.

Asam benzoat

Asam sorbat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$) dan bentuk garam asam benzoate ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$) juga esternya p-hydroxybenzoic acid (paraben) dapat digunakan sebagai senyawa pengontrol mikroba. Aktivitas antimikroba benzoate berkaitan dengan nilai pH dan aktivitas paling besar pada pH rendah. Digunakan dalam bentuk asam benzoat atau garamnya dengan konsentrasi 500-2000ppm. Digunakan dalam bentuk asam atau garamnya (sodium sorbat, potasium sorbat, kalsium sorbat). Konsentrasi 500-2000ppm (0,05-0,2%). Efektif

untuk khamir dan kapang. Mekanisme melalui: (1) Menghambat aktivitas enzim. (2) Merusak sintesis dinding sel, protein, RNA, DNA.

Asam sorbat

Asam sorbat ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{COOH}$) digunakan sebagai pengawet makanan dalam bentuk garam kalsium, garam sodium atau garam potassium. Sorbat umumnya untuk menghambat pertumbuhan kapang dan khamir, namun juga efektif untuk menghambat pertumbuhan golongan bakteri terutama bakteri bentuk coci katalase positif yang lebih sensitive dibanding bakteri katalase negative, dan golongan aerob lebih sensitif dibanding anaerob. Bakteri asam laktat resisten terhadap asam sorbat jika berada pada lingkungan pH 4,5 atau di atasnya. Bahan pengawet tersebut diizinkan dalam makanan pada level tidak melebihi 0,2%. Asam sorbat efektif pada pH 6,0 dan kurang efektif pada pH >6,5. Asam sorbat sebagai fungistat pada produk makanan seperti keju, roti, jus buah, minuman dan salad dressing. Penghambatan terhadap kapang dihasilkan oleh penghambatan terhadap aktivitas enzim dehydrogenase. Dalam hal menghambat germinasi endospore, sorbat mencegah pertumbuhan sel vegetative. Sebagai asam lipofilik, asam sorbat dan asam propionate menghambat sel mikroba melalui mekanisme yang sama. Mekanisme penghambatan dihasilkan dari kemampuan asam berdisosiasi dan tidak berdisosiasi; Menghambat kerja enzim; Merusak membran sel dan protein dalam membran. Mekanisme penghambatan ini melibatkan proton motive force (PMF), dimana ion hydrogen (proton) dan ion hidroksil dipisahkan oleh membrane sitoplasma, dimana ion hydrogen akan berada di luar sel dan menyebabkan keasaman pH, sementara ion hidroksil berada di dalam sel dan menyebabkan pH mendekati netral. Gradien membran yang ditimbulkan menghasilkan potensi elektrokimia yang digunakan sel dalam transportasi aktif beberapa senyawa seperti asam amino. Asam lipofilik lemak bertindak sebagai protonofore. Setelah difusi melewati membrane, molekul yang tidak terdisosiasi mengalami ionisasi di dalam sel dan menurunkan pH intraseluler. Hal ini menghasilkan melemahnya gradient transmembrane sehingga mempengaruhi transpor asam amino.

Sorbit menghambat intake fenilalanin, dan menurunkan sintesa protein.

4. Pengendalian menggunakan Garam dan Gula

Kedua senyawa ini dikelompokkan bersama karena mempunyai kesamaan dalam moda mekanismenya dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Garam telah digunakan sebagai bahan pengawet alami makanan sejak zaman purbakala. Pada awalnya garam digunakan untuk mengawetkan daging. Penggunaan garam berdasarkan fakta bahwa garam pada konsentrasi tinggi menghasilkan efek mengeringkan baik terhadap makanan maupun mikroba. Garam dalam air (saline water) pada konsentrasi antara 0,85-0,90% menghasilkan kondisi isotonic untuk mikroba bukan berasal dari laut. Karena jumlah garam dan air adalah sama pada kedua sisi membrane sel, maka air berpindah menyeberang membrane sel dalam jumlah yang sama dalam dua arah. Ketika sel mikroba direndam dalam misalnya 5% larutan garam, maka konsentrasi air di dalam sel lebih besar dari di luar sel, dimana konsentrasi H₂O adalah tertinggi ketika konsentrasi larutan garam adalah terendah. Dalam difusi, air berpindah dari area dengan konsentrasi tinggi ke arah area dengan konsentrasi lebih rendah. Dalam hal ini, air keluar dari sel dengan laju yang lebih besar dari laju masuknya air ke dalam sel. Hal ini menghasilkan peristiwa plasmolysis, dan mengakibatkan penghambatan pertumbuhan dan kematian sel. Hal inilah sebenarnya yang dicapai ketika garam dalam konsentrasi tinggi ditambahkan ke dalam daging segar dalam tujuan pengawetan daging. Baik sel mikroba maupun daging melangsungkan proses plasmolisa (mengkerut), dan mengakibatkan pengeringan daging, demikian juga inhibisi atau kematian sel mikroba. Garam harus digunakan dalam konsentrasi yang cukup untuk menghasilkan efek kondisi hipertonik. Semakin tinggi konsentrasi garam, semakin tinggi efek pengawetan dan pengeringan. Ketika refrigerator tidak ada, daging dan ikan cukup efektif diawetkan dengan cara penggaraman. Efek penghambatan garam tidak tergantung pada pH seperti pada penggunaan bahan kimia lain untuk pengawetan. Sebagian besar bakteri laut dapat dihambat

pertumbuhannya dengan garam $\leq 20\%$, namun beberapa kapang toleran terhadap kadar garam tinggi. Organisme yang dapat tumbuh dalam atau memerlukan konsentrasi garam tinggi disebut sebagai golongan halofilik. Sementara mikroba yang dapat bertahan tetapi tidak tumbuh dalam konsentrasi garam tinggi disebut sebagai golongan halodurik.

Gula

Gula dalam hal ini sukrosa, menghasikan efek mengawetkan dengan mekanisme yang sama dengan garam. Salah satu perbedaannya terletak pada konsentrasinya. Umumnya memerlukan enam kali lebih sukrosa dibanding garam untuk menghasilkan efek yang sama. Penggunaan gula yang paling umum sebagai bahan pengawet adalah untuk membuat buah-buahan menjadi awet, membuat permen, susu kental manis dan pemanis lainnya. Stabilitas umur simpan makanan seperti pie, cake, dan produk lain adalah disebabkan oleh efek pengawetan oleh penggunaan konsentrasi gula tinggi, seperti halnya pada garam, menyebabkan air tidak tersedia untuk pertumbuhan mikroba. Bakteri patogen yang ditumbuhkan dalam pemanis seperti high fructose corn syrup pada jumlah 10^5 /gram tidak terdeteksi setelah 3 hari inkubasi pada suhu ruang. Oleh karena itu kontaminasi produk berkadar gula tinggi seharusnya tidak menjadi masalah kesehatan masyarakat. Mikroba mempunyai respon yang berbeda terhadap konsentrasi gula hipertonik, dengan khamir dan kapang kurang sensitive dibanding bakteri. Beberapa khamir dan kapang dapat tumbuh dalam media yang mengandung sukrosa sebesar 60%, dimana sebagian besar bakteri terhambat pada konsentrasi gula yang lebih rendah. Organisme yang dapat tumbuh dalam konsentrasi gula tinggi disebut golongan osmofilik, sedangkan mikroba osmodurik adalah mikroba yang tidak dapat tumbuh namun bisa bertahan hidup pada konsentrasi gula tinggi. Beberapa khamir osmofilik seperti *Zygosaccharomyces rouxii* dapat tumbuh dalam media mengandung konsentrasi gula yang sangat tinggi (ekstrim).

5. Pengendalian menggunakan bahan dengan efek antimikroba secara tidak langsung.

Senyawa dan produk dalam pembahasan ini adalah ditambahkan ke dalam bahan pangan dengan tidak mengharapkan adanya efek antimikroba secara langsung, sehingga bersifat bahan tambahan multifungsional. Senyawa tersebut antara lain meliputi:

Antioksidan

Antioksidan digunakan dalam makanan terutama untuk mencegah ootoksidasi lipid. Antioksidan fenolik yang terdapat pada Tabel 6.3. diketahui memiliki aktivitas antimikroba melawan mikroorganisme dalam radius yang luas, meliputi virus, mycoplasma, dan protozoa. Senyawa tersebut telah dievaluasi secara menyeluruh sebagai agensia nitrite-sparing dalam pengolahan daging dan dalam kombinasi dengan senyawa inhibitor lain.

Tabel 6.3. Bahan antioksidan yang digunakan untuk makanan dan termasuk GRAS.

Senyawa	Penggunaan utama	Organisme paling sensitif
Butylated hydroxyanisole (BHA).	Antioksidan	Bakteri, fungi
Butylated hydroxytoluene (BHT).	Antioksidan	Bakteri, fungi,
t-Butylated hydroxyquinone (TBHQ)	Antioksidan	virus
Propyl gallate (PG)	Antioksidan	Bakteri, fungi
Nordihydroguaiaretic acid	Sequestran/stabilizer	Bakteri
Etylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	Buffer/sequestran	Bakteri
Sodium sitrate	Defoaming agent	Bakteri
Lauric acid	Emulisifier	Gram +
Monolaurin	Flavoring	Gram +, khamir
Diacetyl	Flavoring	Gram -, fungi
Alfa-and 1-Carvone	Flavoring	Fungi, Gram +
Phenylacetaldehyde	Flavoring	Fungi, Gram +
Menthol	Flavoring	Bakteri, fungi
Vanillin, ethyl vanillin	Binding air,flavoring.	Fungi
Phosphates	Flavoring	Bakteri
Spices/spices oil		Bakteri, fungi

Sumber Jay et al., 2005

BHA, BHT, dan TBHQ adalah inhibitor bakteri Gram positif dan negative juga khamir dan kapang pada konsentrasi yang bervariasi dari 10-1000 ppm tergantung pada substratnya. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi diperlukan untuk menghambat mikroba di dalam makanan disbanding dalam media kultur, khususnya makanan lemak tinggi. BHA adalah 50 kali kurang efektif menghambat *Bacillus spp* dalam daging ayam disbanding dalam media cair pertumbuhan. BHA dan TBHQ lebih mempunyai sifat penghambatan disbanding BHT terhadap bakteri dan fungi. Gram positif lebih sensitif disbanding Gram negative terhadap BHA, BHT, TBHQ, dan PG. foodborne pathogen seperti *Bacillus cereus*, *V. parahaemolyticus*, salmonellae, dan *S. aureus* efektif dihambat pada konsentrasi < 500 ppm, sedangkan pathogen yang lain sensitive pada konsentrasi <10 ppm. *P. aeruginosa* adalah bakteri yang paling resisten. Penisilia penghasil toksin dalam salami efektif terhambat oleh BHA, TBHQ dan kominasinya pada konsentrasi 100 ppm. Kombinasi BHA/sorbate dan BHT/monolaurin mempunyai efek sinergistik melawan *S. aureus*, dan BHA/sorbitat melawan *S. typhimurium*. BHT/TBHQ mempunyai efek sinergistik melawan aspergillus penghasil toksin.

Agensia flavoring

Sebagian besar agensia yang berfungsi memberikan aroma dan flavor pada makanan juga mempunyai efek antimikrobia. Secara umum senyawa pemberi flavor cenderung memiliki sifat antifungal dari pada antibakteri. Bakteri Gram positive non laktik adalah lebih sensitive dan bakteri asam laktat lebih resisten. Dari 21 macam agensia flavoring yang diuji, separoh diantaranya memiliki minimal inhibitory concentration (MIC) 1000 ppm atau kurang melawan bakteri atau fungi. Semua agensia flavoring tersebut sensitive terhadap Ph dimana daya penghambatan meningkat dengan menurunnya Ph dan suhu inkubasi. Salah satu agensia flavoring yang paling efektif adalah diacetyl, yang memberikan aroma seperti butter. Diacetyl efektif melawan bakteri Gram- dan fungi dibanding bakteri Gram+. Hal ini karena Diacetyl mempunyai sifat bertolak belakang dengan arginine, dengan mereaksikan diacetyl dengan protein yang mengikat arginine yang terdapat dalam bakteri Gram-.

Resistensi yang tinggi pada bakteri Gram + karena adanya kekurangan protein pengikat arginine dalam periplasmic. Senyawa lain yang memberikan aroma butter adalah 2,3-pentadione. Senyawa ini mempunyai efek penghambatan terbatas terhadap bakteri Gram positif dan fungi pada konsentrasi 500 ppm atau kurang. Senyawa I-Carvone memberikan aroma spearmint-like dan mempunyai efek antimikrobia terhadap fungi pada konsentrasi < 1000 ppm. Phenylacetaldehyde memberikan aroma hyacinthlike dan memiliki efek antimikrobia terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 100 ppm. Menthol memberikan aroma peppermintlike dan menghambat *S. aureus* pada konsentrasi 32 ppm. Vanillin dan ethyl vanillin mempunyai efek penghambatan terhadap fungi pada konsentrasi < 1000 ppm.

Spices dan Minyak Esensial

Spices mempunyai fungsi utama adalah sebagai pemberi citarasa dan seasoning, namun demikian spices juga mempunyai efek antimikroba. Secara umum aktivitas antimikroba spices disebabkan oleh senyawa kimia tertentu atau minyak esensial. Efek antimikrobia spices tidak mudah untuk diketahui konsentrasinya secara tepat karena penggunaannya dalam makanan. Banyaknya spices yang digunakan dalam makanan bervariasi tergantung pada rasa dan komposisi produk. Perbedaan jenis spices mempunyai konsentrasi antimikrobia efektif yang berbeda-beda dan pada umumnya pengujian terhadap efektivitas antimikrobia berbasis kering, maka sangat sulit untuk menentukan nilai MIC spices untuk menghambat mikroorganisme tertentu. Disamping itu kesulitan menentukan nilai efektivitas antimikrobia spices adalah metode assay yang berbeda-beda. Secara umum, nilai MIC lebih tinggi bila pengujian dilakukan dengan metode surface plating pada plate count agar (PCA) daripada metode pour plate atau dalam media cair (broth). Ekstrak spices mempunyai efek penghambatan yang lebih besar dibandingkan spices di dalam suatu media. Hal ini mungkin disebabkan oleh pembebasan senyawa volatile yang lebih cepat terjadi pada ekstrak spices. Disamping masalah kesulitan dalam menentukan konsentrasi efektif spices, hasil studi mengatakan bahwa spices memiliki efek antimikrobia yang tidak terbantahkan.

Terdapat hamper 20 jenis spices atau bentuk ekstraknya efektif melawan sebagian besar organisme penyebab keracunan makanan termasuk fungi mycotoksigenik. Umumnya, spices kurang efektif di dalam makanan disbanding dalam media kultur, dan bakteri Gram+ adalah lebih sensitive dari bakteri Gram -, dengan bakteri asam laktat sebagai bakteri yang paling resisten diantara bakteri Gram+. Substansi antimicrobial dalam berbagai jenis spices sangat bervariasi, misalnya alisin dalam bawang putih berkisar pada 0,3-0,5%, dan eugenol dalam cengkih 16-18%. Sage dan rosemary memiliki efek antimikrobia yang paling besar yaitu 0,3% di dalam kultur media dapat menghambat 21 dari 24 bakteri Gram+. Minyak essential mustard putih dalam makanan pada konsentrasi 25-100 ppm dapat menghambat Gram - dan Gram +, juga khamir. mekanisme penghambatan spices terhadap mikroba kurang begitu jelas namun diduga berbeda pada setiap kelompok spices. Misalnya mekanisme penghambatan oregano, rosemary, sage, dan thyme adalah serupa.

Fosfat

Garam fosfat ditambahkan ke dalam pengolahan daging dengan tujuan untuk meningkatkan nilai water holding capacity (WHC). Garam fosfat juga berperan memberikan flavor dan sebagai antioksidan. Fosfat yang tergolong Foodgrade adalah dari satu P (trisodium phosphate) hingga paling sedikit 13 P (sodium polyphosphates). Trisodium phosphates (TSP) diujikan pada daging ayam dan potongan daging ayam terhadap *L. monocytogenes*. Menggunakan 10^8 cfu/ml kultur *L. monocytogenes*, sampel daging ayam direndam dalam 10-12% TSP dan air steril sebagai control. Setelah inkubasi selama 5 hari pada suhu 2°C , TSP menghasilkan penghambatan yang lebih efektif dengan penurunan jumlah mikroba sebesar 4,28 log dibanding penurunan hanya 3,3 log. Mekanisme penghambatan fosfat terhadap sel bakteri *Bacillus cereus* dan sporanya adalah menggunakan glassy sodium poly fosfat rantai panjang (polyP) dan bersifat bakterisidal terhadap sel fase log dimana polyP menyebabkan sel lisis. Sedangkan polyP pada konsentrasi 0,1% menghambat germinasi spora dan pertumbuhannya, sedangkan konsentrasi 1% bersifat sporisidal.

PolyP juga berpengaruh terhadap protein FtsZ yang berperan dalam pembelahan sel vegetative *Listeria monocytogenes* sehingga memblokir polimerisasi cincin Z.

Asam asetat dan asam laktat.

Asam asetat dan asam laktat adalah dua dari berbagai asam yang sering digunakan sebagai pengawet makanan. Pada beberapa hal, keberadaan asam asetat dan asam laktat dalam makanan adalah karena produksi bakteri asam laktat yang terdapat dalam makanan tersebut. Produk pickel, sauerkraut, susu fermentasi adalah diproduksi dari aktivitas fermentasi bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat, asetat dan asam lain. efek antimikrobia asam organik seperti asam propionate, asam laktat adalah disebabkan oleh penurunan pH di bawah kisaran pH pertumbuhan dan oleh penghambatan metabolisme oleh molekul asam tidak terdisosiasi. Efek bakterisidal asam asetat dapat ditunjukkan oleh aksinya terhadap bakteri patogen. Ketika dua spesies *Salmonella* ditambahkan salad dressing yang mengandung vinegar dan minyak, maka inoculum awal yang berjumlah 5×10^6 S. *enteritidis* tidak terdeteksi setelah 5 menit sedangkan *S. typhimurium* tidak terdeteksi setelah 10 menit. Asam organik juga digunakan untuk mencuci dan mensanitasi karkas hewan setelah pemotongan untuk mengurangi patogen yang dibawa dan untuk meningkatkan shelf life produk.

Antibiotic

Antibiotic adalah metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroorganisme untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme dalam spectrum luas. Antibiotic yang paling banyak digunakan diproduksi oleh kapang dan bakteri genus *Streptomyces* dan beberapa *Bacillus* dan *Paenibacillus* spp. Chlortetracycline dan oxytetracycline adalah antibiotic yang telah dipelajari untuk diaplikasikan pada makanan segar, sementara natamycin digunakan sebagai pengawet makanan. Ingram et al mencatat tentang pertimbangan penggunaan antibiotic sebagai pengawet makanan, diantaranya yaitu: (1) antibiotic seharusnya membunuh, dan bukan menghambat flora dan harus mendekomposisi menjadi produk inoffensive atau rusak selama pemasakan produk yang memerlukan

pemasakan. (2) antibiotic harus tidak di inaktifasi oleh komponen makanan atau produk metabolisme mikrobia. (3) antibiotic harus tidak menstimulasi strain resistant. (4) antibiotic harus tidak digunakan dalam makanan jika difungsikan sebagai agensia therapeutic atau sebagai pakan tambahan hewan. Tetrasiklin digunakan baik sebagai klinis dan pakan tambahan. Tylosin digunakan sebagai pakan tambahan beberapa penyakit unggas. dan hanya dalam perlakuan Nisin dan subtilin tidak digunakan

Agensia anti fungi

Beberapa senyawa yang digunakan untuk mengontrol buah buahan setelah panen terutama untuk mengendalikan pertumbuhan kapang seperti pada Tabel 6.4.

Table 6.4. Senyawa kimia yang digunakan untuk mengontrol pembusukan fungi pada buah segar.

Senyawa kimia	Jenis buah
Thiabendazole	Apel, pear, jeruk, nanas.
Benomyl	Apel, pear, pisang, jeruk, manga, papaya,
Biphenyl	peach, ceri, nanas.
Fumigasi SO ₂	Jeruk
Sodium-alfa-phenylphenate	Anggur
	Apel, pear, jeruk, nanas.

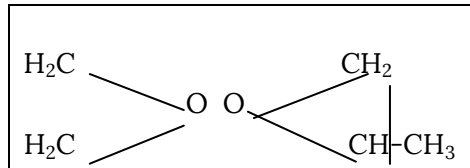
Sumber Eckert dalam Jay et al., 2005

Benomyl digunakan secara acak pada permukaan keseluruhan buah umumnya pada konsentrasi 0,5 - 1,0 gram/L. benomyl dapat menembus permukaan sayuran untuk mengontrol busuk pucuk dan antraknose pada buah pisang, dan akar batang buah jeruk. Benomy lebih efektif dibanding thiabendazole dan dapat menembus lebih mudah dan cepat. Benomyl dan thiabendazole digunakan untuk mengontrol busuk yang disebabkan oleh *Fusarium spp*, juga untuk mencegah penyebaran *Botrytis* pada anggur, SO₂ digunakan untuk penyimpanan dalam jangka waktu lama. Biasanya menggunakan benomyl pada konsentrasi 1% pada 20 menit pertama kemudian dilanjutkan dengan 0,25% pada perlakuan berikutnya. Ekstrak *Trichoderma sp* (6-phenyl-alfa-pyrone, 6-PAP)

adalah suatu senyawa inhibitor efektif terhadap *Botrytis* dan *Armallaria* yang merusak buah kiwi dari New Zealand.

Ethylene dan oksida propylene

Ethylene dan oksida propylene bersamaan dengan ethyl (HCOOC_2H_5) dan methyl formate (HCOOCH_3) memiliki mekanisme yang sama sebagai agensia pengendali. Struktur senyawa oksida adalah:



Oksida berupa gas dan digunakan sebagai fumigasi pada industri makanan. Oksida digunakan untuk pada buah kering, kacang, bumbu, dan khususnya sebagai senyawa antifungal. Ethylene oksida adalah sebagai suatu alkylating agent. Aktivitas antimikroba ethylene oksida diduga berkaitan dengan mekanisme sebagai berikut. Dengan hadirnya atom H yang labil, struktur cincin ethylene oksida yang tidak stabil akan terpisah. Atom H berkaitan dengan atom oksigen membentuk radikal hydroksi ethyl ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) yang berkaitan atau menempel pada posisi molekul organik dimana atom H nya hilang. Gugus Hydroxyl ethyl memblokir gugus reaktif di dalam protein mikroba, dan akibatnya menghasilkan suatu penghambatan. Diantara gugus yang dapat mensuplai atau menggantikan posisi yang ditinggalkan atom H adalah $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, dan $\text{O}-\text{OH}$. Ethylene oksida mengendalikan endospore *C. botulinum* dengan cara alkilasi komponen guanine dan adenine dalam DNA sporanya. Ethylene oksida digunakan sebagai senyawa pensterilisasi dalam bentuk gas (sterilant gaseous) pada pengemas makanan olahan yang mudah rusak.

6. Pengendalian dengan Biocontrol

Biocontrol adalah penggunaan satu atau lebih organisme untuk mengontrol atau menghambat pertumbuhan organisme lainnya. Biocontrol ini diperlukan organisme hidup seperti fage atau melalui pengontrolan secara tidak langsung seperti produksi

bakteriosin. Antibiotic tidak termasuk dalam agensia biocontrol. Biocontrol yang terkait dengan perlindungan pangan meliputi aktivitas bakteri asam laktat, bakteriosin, endolysin, bakteriofage, dan protective culture pada umumnya.

Gangguan mikroba (Microbial interference)

Microbial interference mengacu pada penghambatan yang tidak spesifik pada umumnya atau membunuh satu organisme oleh anggota organisme lain dalam habitat atau lingkungan yang sama. Sedangkan lactic antagonism adalah suatu contoh specific dari microbial interference. Bacterial interference diperkenalkan oleh R. Dubois yang menerangkan adanya antagonisme antara pathogen tertentu pada kulit manusia dengan biota normal/alami yang terdapat dalam kulit manusia dan biota normal ini berperan sebagai background bakteri. Contoh lain adalah kehidupan biota normal/alami dalam produk pie dapat menghambat inokulasi *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhimurium*. Represi *S. aureus* dalam pie ini karena adanya biota alami sebesar 10^5 /g. Bakteri pathogen daging juga mati oleh biota normal/alami dalam daging sebesar 10^5 /g. Mekanisme represi microbial interference ini disebabkan oleh jumlah biota background/alami yang harus lebih besar dari biota yang akan dihambat atau dimatikan, dan biota background pada umumnya homogen. Disamping itu dapat dijelaskan bahwa terjadi adanya (1) kompetisi terhadap nutrisi, (2) kompetisi terhadap sisi adhesi atau tempat untuk berkolonisasi, (3) perubahan kondisi lingkungan yang menjadi tidak sesuai dengan pertumbuhan, (4) kombinasi dari semuanya.

Lactic antagonism.

Fenomena bakteri asam laktat menghambat dan membunuh bakteri yang berkaitan dekat, bakteri penyebab keracunan, bakteri pembusuk pada saat ditumbuhkan atau berada dalam kehidupan bersama telah ada sejak 80 tahun yang lalu. Fenomena ini yang disebut sebagai lactic antagonism. Mekanisme penghambatan secara jelas belum diketahui. Namun beberapa faktor yang dapat menyebabkan mekanisme penghambatan adalah adanya produksi antibiotic, H_2O_2 , diasetil, dan bakteriosin, penurunan pH dan

berkurangnya nutrisi. Lactic antagonism adalah suatu contoh dari fenomena microbial interference.

Dalam suatu studi, *Lactobacillus lactis* penghasil pediosin dikembangkan secara genetic untuk menghasilkan pediosin dalam jumlah besar untuk mengontrol pertumbuhan *L. monocytogenes* di dalam keju selama proses penuaan (ripening). Hasilnya menunjukkan bahwa pada keju control, pathogen tumbuh meningkat hingga 10^7 /gram setelah 2 minggu dan kemudian menurun menjadi sekitar 10^3 setelah 6 bulan. Sebaliknya pada keju perlakuan, pathogen menurun menjadi 10^2 /gram dalam 1 minggu dan kemudian menjadi hanya 10/gram dalam kurun waktu 3 bulan. *Propionibacterium freundenreichi subs shermanii* yang menghasilkan ill-defined, system penghambatan multikomponen jika ditumbuhkan dalam susu skim pasturisasi, dapat menghambat bakteri Gram negative dan kapang dalam keju kotage. Suatu produk yang disebut sebagai Micrograad reuterin (3-dehydropropionalaldehyde) adalaah dihasilkan oleh *Lactobacillus reuteri* dari glycerol. Pada konsentrasi 100 AU/gram, *E. coli*157:H7 menurun sebesar 5 log dalam daging setelah 1 hari pada suhu 7°C. Reuterin 4AU/g juga dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan reiterin 8AU/g menghambat *L. monocytogenes*. *Lactobacillus casei* juga dapat membunuh *Aeromonas hydrpphila*. *Staphylococcus equorum* memproduksi antibiotic peptide macrocyclic (micrococcin P1) dan *S. equorum* menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes*. Senyawa lain yang bersifat antilisteria yaitu coagulin yang diproduksi oleh *Bacillus subtilis*. Kemanjuran bakteri asam laktat untuk mengontrol pertumbuhan *L. monocytogenes* dalam susu pasturisasi dapat dibuktikan dengan menginokulasi pathogen sebesar 10^4 cfu/mL dengan inkubasi 30°C, dan bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc cremoris*, *Lactobacillus plantarum*, *L. delbrueckei subs bulgaricus*, dan *Streptococcus salivarius subs thermophilus*. Penghambatan yang dihasilkan adalah 89-100% dengan pH akhir 4,17-4,21 pada suhu 30°C atau 37°C.

Protective cultures yang mengacu pada mikroorganisme yang ditemukan atau yang ditambahkan ke dalam produk makanan agar mempunyai efek preservasi, dan konsep ini diperkenalkan

oleh Holzapfel dalam Jay et al., 2005. Sebagai contoh konsep *Protective cultures* adalah lactic antagonism. Protective culture harus mempunyai kriteria antara lain (1) organisme harus tidak menunjukkan bahaya kesehatan, (2) memberikan efek menguntungkan pada produk makanan, (3) tidak mempunyai dampak negative terhadap nilai sensori, (4) berperan sebagai indicator jika dalam kondisi abuse disalah digunakan. Bakteri asam laktat termasuk dalam kategori protective cultures.

Nisin dan Bakteriosin

Nisin diproduksi oleh beberapa strain *Lactobacillus lactis*. Nisin adalah lantibiotik mengandung asam amino yang langka yaitu meso-lanthionine dan 3-methyl-lanthionine. Nisin digunakan sebagai makanan pertama kali dikenalkan oleh Hurst (1981) untuk mencegah pembusukan keju Swiss oleh *Clostridium butyricum*. Nisin adalah senyawa hidrofobik dan dapat didegradasi oleh metabisulfit, titanium oksida, dan enzim proteolitik tertentu. Nisin efektif menghambat bakteri Gram positif, khususnya pembentuk spora, dan tidak efektif melawan bakteri Gram negative dan fungi. *Enterococcus faecalis* adalah satu satunya bakteri Gram positif yang paling resisten terhadap nisin. Nisin dapat digunakan sebagai senyawa preservative karena sebagai berikut: nontoksik, diproduksi oleh *Lactobacillus lactis*, stabil terhadap panas dan memiliki stabilitas yang baik selama penyimpanan, dihancurkan oleh enzim digestif, tidak berkontribusi pada terbentuknya off-flavor atau off-odor, mempunyai antimikrobia ber spectrum yang sempit.

Bakteriosin umumnya hanya menghambat spesies yang berkerabat dekat dan bakteri Gram positif. Bakteriosin terdiri dari protein kecil, dan mediated plasmid. Hampir semua spesies yang tergolong bakteri asam laktat memproduksi bakteriosin atau senyawa menyerupai bakteriosin. Mekanisme aksi nisin dan bakteriosin adalah serupa yaitu dengan target sel adalah membrane sitoplasma dimana senyawa nisin dan bakteriosin dengan mengurangi potensial transmisi membrane dan membentuk pori-pori dalam membrane. Pembentukan pori ini mengakibatkan kehilangan akumulasi asam amino dan penghambatan transport asam amino.

Bakteriophage sebagai agensia biocontrol.

Fage litik spesifik untuk spesies bakteri dan strain spesifik diketahui dapat menghancurkan sel inangnya. Mode aksi inilah yang mendasari phage typing. Bakteriophage merupakan virus yang mempunyai kemampuan menyerang sel bakteri pada reseptor yang spesifik, menginfeksi, bermultiplikasi dalam sel bakteri dan akhirnya melisis sel bakteri. Sifat bakteriophage yang unik ini, sangat menguntungkan karena tidak berbahaya pada sel mamalia dan tidak mengganggu mikroba alamiah. Bakteriophage mudah diperoleh di lingkungan seperti tanah, air, limbah peternakan dan makanan.

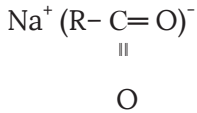
7. Pengendalian menggunakan senyawa Saniter

Senyawa fenol dapat berfungsi sebagai saniter dalam program sanitasi. Fenol pada konsentrasi 1 hingga 2% fenol dapat mengkoagulasi protein dalam sel mikrobia dan mengakibatkan kerusakan pada enzim mikrobia. Senyawa fenol ini misalnya asam karbol dan alkohol. Senyawa halogen misalnya Iodin, klorin merupakan agensia oksidator yang kuat. Senyawa ini dapat merusak ikatan kimia. Pada sel mikroba dapat menyebabkan kematian sel. Penggunaan senyawa klorin dapat menimbulkan residu di dalam air sebesar 0,2 hingga 1 ppm. Senyawa Iodin 0,1 hingga 1% dapat digunakan sebagai saniter yang mengakibatkan kerusakan sel mikroba. Senyawa asam dan alkalin. Asam lemah meliputi asam asetat, asam laktat, dan asam kuat antara lain HCl, H₂SO₄. Senyawa alkalin dapat mengakibatkan kerusakan dinding sel dan membrane sel mikrobia. Misalnya KOH dan NaOH. Senyawa oksida. Senyawa oksida meliputi ethylene oksida, propylene oksida. Senyawa tersebut tidak digunakan dalam pengolahan produk pangan karena akan meninggalkan residu. Senyawa tersebut pada umumnya digunakan pada pengolahan produk plastic cawan petri sekali pakai (disposable). Proses kimia yang terjadi di dalam pangan yang menggunakan senyawa oksida adalah reaksi alkilasi.

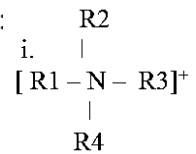
Senyawa kimia yang berpengaruh terhadap mikroorganisme.

Detergen. Detergen berperan sebagai surface active agent (surfactants) yaitu senyawa yang membantu menggabungkan dua molekul cair yang tidak bisa berinteraksi. Yang tergolong dalam surface active agent yaitu:

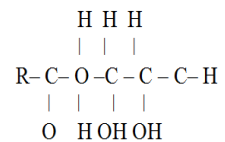
1. Senyawa anionic misalnya sabun dan asam lemak.



2. Cationic misalnya quaternary ammonium compounds :

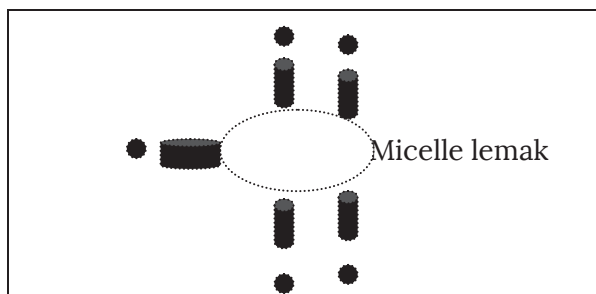


3. Nonionic misalnya polyethers, polyglycerol.



4. Surface tension (tegangan permukaan) Detergent

- Hidrofilik
- Hidrofobik berinteraksi dengan partikel lemak.



Struktur hidrofilik dan hidrofobik detergent ini dapat merusak dinding sel bakteri.

Zat pewarna (dye)

Zat pewarna tidak dapat digunakan untuk membunuh bakteri, kapang maupun khamir.

Tidak dapat digunakan dalam pengolahan makanan karena kebanyakan senyawa pewarna bersifat karsinogen. Pembuatan media yang mengandung zat warna digunakan sebagai senyawa penyeleksi atau penanda mikroorganisme yang mati.

8. Pengendalian menggunakan suhu rendah.

Perlakuan/pengolahan produk pangan menggunakan suhu rendah ada 2 macam yaitu pendinginan (cooling) dan pembekuan (freezing). Perlakuan suhu rendah bertujuan untuk memperpanjang masa simpan produk pangan. Proses ini melalui mekanisme yaitu mengurangi atau menghentikan kegiatan enzimatik, mengurangi atau menghambat pertumbuhan mikroba pada produk pangan, dan mengurangi populasi mikroba atau mematikan sebagian. Perlakuan suhu dingin dapat juga digunakan untuk penyimpanan kultur bakteri. Hal ini karena penyimpanan kultur bakteri pada suhu rendah dapat meningkatkan viabilitas, dan memperkecil perubahan sifat fisiologik bakteri. Pendinginan adalah penyimpanan bahan pangan diatas suhu pembekuan yaitu -2 sampai $+10^{\circ}\text{C}$. Pendinginan yang biasa dilakukansehari-hari dalam lemari es pada umumnya mencapai suhu $5-8^{\circ}\text{C}$. Meskipun air murni membeku pada suhu 0°C , tetapi beberapa makanan ada yang tidak membeku sampai suhu -2°C atau di bawah, hal ini terutama disebabkan oleh pengaruh kandungan zat-zat didalam makanan tersebut. Aktivitas mikroorganisme menurun atau menjadi lambat atau bahkan berhenti pada suhu rendah. reaksi kimia yang berlangsung dalam sel/sitoplasma menurun atau melambat. Aktivitas enzimatik dalam produk makanan melambat atau menurun. oleh karena itu aktivitasmetabolisme mikroorganisme juga menurun. Pada setiap penurunan suhu 10°C terjadi dua kali lipat penurunan laju reaksi kimia. Tidak banyak mikroorganisme golongan psikrotrof dapat tumbuh pada suhu 0°C , golongan psikrofilik mempunyai suhu maksimum pertumbuhan pada $<10^{\circ}\text{C}$. golongan psikrotrof mampu

tumbuh pada suhu 10°C atau dibawahnya dan pertumbuhan terbaiknya pada suhu 21°C. Koefisien suhu:

$$Q_{10} = \frac{\text{velocity pada } (T + 10^{\circ} \text{ C})}{\text{velocity pada } T}$$

Q_{10} sebesar 1,5 – 2,5 untuk kebanyakan system biologi.

Mikroorganisme yang termasuk ke dalam golongan psykrotrof meliputi (1) bakteri: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* dan *Flavobacterium*., (2) kapang (*Penicilium*, *Mucor*, *Geotrichum*, dan *Cladosporium*), (3) Khamir (*Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, dan *Debaryomyces*). Kisaran suhu rendah meliputi suhu dingin (chilling) pada suhu 10 – 15°C untuk proses pendinginan buah dan sayuran. Suhu refrigerasi pada 1-2°C dan 5-7°C digunakan untuk proses pendinginan makanan yang mudah rusak (perishable foods) dan makanan yang agak mudah rusak (semi perishable foods). Suhu freezing pada <18°C pada kondisi normal dapat mencegah semua mikroorganisme. Proses freezing dapat dilakukan dengan cara pembekuan cepat (quick freezing) dimana makanan diproses pada suhu -20°C selama 30 menit. Misalnya melalui cara perendaman langsung (direct immersion), indirect immersion atau menggunakan hembusan kuat udara beku (*air blast*). Proses pembekuan lambat (slow freezing) adalah proses pembekuan dimana suhu beku yang diinginkan dicapai selama 3 hingga 72 jam. Misalnya pada home freezer.

Efek suhu rendah terhadap mekanisme fisiologi mikroba.

Terdapat lima perubahan fisiologi psikrotrof selama penyimpanan suhu dingin.

1. Psikrotrof memiliki laju metabolisme yang rendah. Hal ini disebabkan antara lain proses sintesis protein lambat pada suhu rendah, sintesis enzim juga menurun. Psikrotrof mempunyai aktivitas enzimatik yang bagus pada suhu rendah karena motilitas, pembentukan endospora, dan germinasi endospore terjadi pada suhu 0°C.
2. Membrane sel psikrotrof mentranspor larutan lebih efisien. Penyerapan maksimum glukosa dan laktosa terjadi pada suhu 0°C dan menurun jika suhu meningkat hingga 15°C.

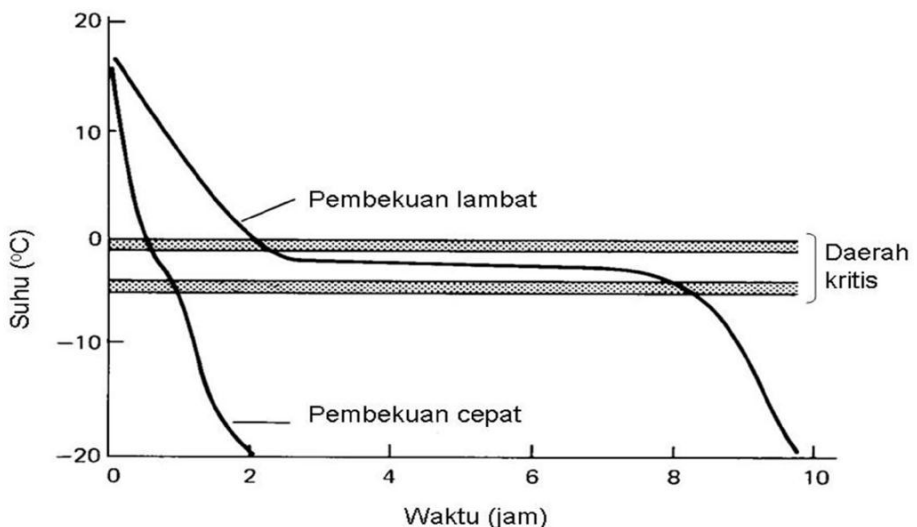
3. Beberapa psikrotrof memproduksi sel yang lebih besar. Khamir, kapang dan bakteri memproduksi sel yang ukurannya lebih besar ketika tumbuh pada kondisi psikrotrofik disbanding kondisi mesofilik. Menngkatnya ukuran sel disebabkan oleh meningkatnya RNA dan kandungan protein dalam sel.
4. Psikrotrof mudah terpengaruh oleh kondisi aerasi.
5. Beberapa psikrotrof menunjukkan kebutuhan nutrisi senyawa organik yang meningkat.

9. Pengendalian menggunakan Suhu beku.

Pembekuan dapat sebagai salah satu teknik untuk mengawetkan makanan. Pengawetan pangan melalui proses pembekuan dapat dicapai dengan kombinasi dua faktor, yaitu faktor suhu dan aktivitas air, dan dalam beberapa kasus ditambah dengan perlakuan blansir sebelum proses pembekuan. Secara keseluruhan, faktor-faktor tersebut akan menurunkan laju reaksi kimia, biokimia, dan aktivitas mikrobiologi. Pada dasarnya, proses pembekuan produk pangan adalah produk pangan dipaparkan pada suhu yang sangat rendah, dengan tujuan untuk menurunkan suhu produk sampai mencapai titik bekunya, kemudian membekukan (mengubah air menjadi es), dan akhirnya menurunkan suhu produk ke suhu beku yang diinginkan. Produk hasil pertanian segar, mengandung panas yang meliputi panas sensibel dan panas laten, selain itu pada proses pembekuan juga harus mengambil panas yang dihasilkan selama proses respirasi, yang disebut sebagai beban panas (*heat load*). Selain itu, pada proses pembekuan juga perlu diperhitungkan proses “pembekuan” lain yang terjadi, misalnya proses kristalisasi lemak, sehingga panas laten kristalisasinya perlu pula diperhitungkan. Kebanyakan produk pangan mengandung sejumlah besar air, sehingga panas kristalisasi ini bisa diabaikan. Namun, untuk produk pangan olahan, maka panas kristalisasi lemak ini bisa cukup besar.

Mekanisme proses pembekuan.

Suhu dimana pada produk yang dibekukan mulai terjadi pembentukan kristal es disebut sebagai titik beku awal (initial freezing point) produk. Selama proses pembekuan, profil penurunan suhu pada produk pangan selama pembekuan, berbeda dengan profil penurunan suhu yang terjadi pada proses pembekuan air murni (Gambar 6.2). Umumnya produk pangan mempunyai titik beku suatu produk selalu lebih rendah dari 0°C . Proses pembekuan produk dimulai dengan terjadinya supercooling, yang untuk beberapa proses pembekuan produk pangan bisa terjadi sampai sekitar 10°C dibawah titik beku. Setelah terjadi supercooling, proses pembekuan air menjadi es terus terjadi pada titik bekunya. Proporsi air yang tetap dalam keadaan air (tidak beku/unfrozen) pada suhu yang sering digunakan di industri pembekuan tergantung dari tipe, komposisi produk pangan dan suhu penyimpanan beku. Misalnya, suhu penyimpanan beku pada 20°C , sekitar 88% pada daging kambing beku (lamb), 91% pada ikan beku, dan 93% pada albumin telur.



Gambar 6.2. Profil penurunan suhu pada proses pembekuan lambat dan pembekuan cepat. (Hariyadi, 2013)

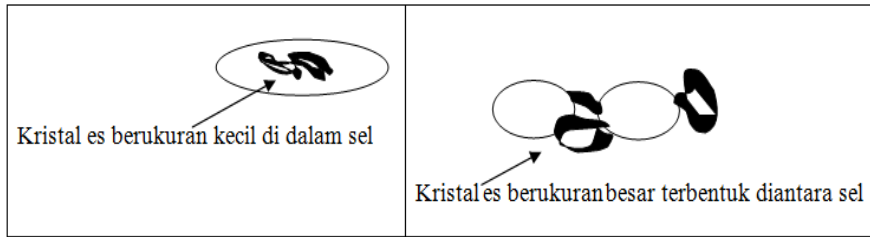
Berdasarkan pada kecepatan pembekuannya proses pembekuan bisa pula dikelompokkan dalam: Pembekuan lambat (slow freezing) yang membekukan suatu bahan dengan laju pergerakan permukaan beku sekitar 0.2 cm/jam. Still air freezers (pembeku udara diam) dan pembeku untuk penyimpanan dingin termasuk dalam kelompok pembeku lambat. Pembekuan cepat bisa dikelompokkan menjadi: 1. Quick freezing, dengan laju pergerakan permukaan beku sekitar 0.5-3 cm/jam. Quick freezing bisa dilakukan dengan menggunakan air blast dan plate freezers. 2. Rapid freezing, dengan laju pergerakan permukaan beku sekitar 5-10 cm/jam. Rapid freezing bisa dicapai dengan menggunakan fluidized bed freezing, dan 3. Ultra rapid freezing, dengan laju pergerakan permukaan beku sekitar 10 -100 cm/jam, yang umumnya terjadi pada pembeku kriogenik. Laju pembekuan merupakan salah satu faktor kritis yang menentukan mutu produk beku yang dihasilkan. Proses pengolahan menggunakan Quick freezing lebih menguntungkan dibanding Slow Freezing dilihat dari sisi kualitas produk hasil pendinginan, seperti dalam ringkasan berikut ini.

Quick freezing	Slow freezing
<ol style="list-style-type: none"> 1. Terbentuk kristal es yang berukuran kecil, jumlah banyak. 2. Ukuran kristal yang besar berpeluang menusuk dan merusak sel jaringan pangan, sehingga sel kehilangan air dan kekokohan tekstur sel. 3. Metabolism sel terhenti 4. Tidak terjadi adaptasi pada suhu dingin 5. Terjadi thermal shock. 6. Tidak terjadi efek protektif. 7. Mencegah terjadinya ketidak seimbangan metabolisme dalam sel. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kristal es berukuran besar, jumlah sedikit. 2. Semakin cepat laju pembekuan menghasilkan kristal kecil yang banyak sehingga tidak merusak sel dan tekstur produk pangan. 3. Metabolism terputus 4. Beradaptasi terhadap suhu dingin secara perlahan. 5. Tidak terjadi efek thermal shock 6. Terjadi akumulasi konsentrasi larutan yang mempunyai efek menguntungkan. 7. Laju pembekuan yang lebih cepat berarti pula terjadi peningkatan laju produksi (throughput rate) dari mesin freezer.

Mekanisme pembekuan yang terjadi pada sel mikroorganisme.

1. Terjadi pembentukan kristal es.

Pada proses fast freezing pembentukan kristal es terjadi di dalam sel (intracelular crystal). Pada slow freezing pembentukan kristal es dalam ukuran besar terbentuk diantara sel dan menyebabkan efek yang lebih membahayakan sel karena dapat merusak membrane sel.



2. Meningkatkan viskositas dalam sel karena air terkonsentrasi membentuk kristal es.
3. Kehilangan gas O₂ dan CO₂ yang terdapat dalam sel.
4. Terjadi perubahan nilai pH
5. Meningkatnya konsentrasi elektrolit dalam sel.
6. Terjadi perubahan fase material dalam sel yaitu misalnya protein berubah menjadi bentuk koloidal, protein mengalami denaturasi, terjadi shock temperature, terjadi kerusakan metabolisme. Freezer burn yaitu kondisi rusaknya penampakan permukaan bahan pangan (misalnya daging) yang terlihat sebagai spot putih kusam dipermukaan daging yang disebabkan oleh berpindahnya air dari permukaan bahan makanan ke udara di dalam freezer.

Cryoprotectant:

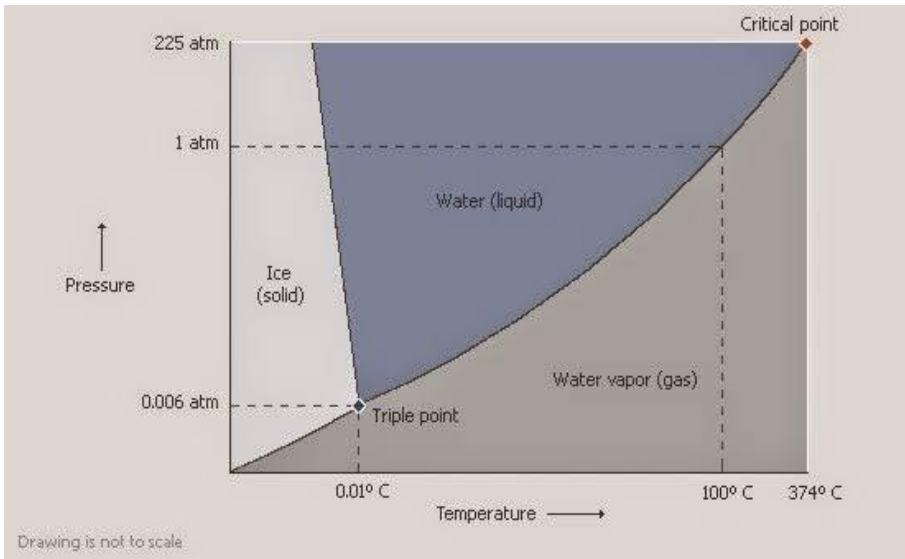
Suatu substansi yang dipergunakan untuk melindungi jaringan biologis dari kerusakan karena perlakuan pembekuan (kerusakan fisik karena terbentuknya kristal es).

Mekanisme: Menurunkan suhu transisi gelas larutan (pemadatan tanpa terbentuk kristal es). Binatang di Antartika menghasilkan cryoprotectant pada tubuhnya untuk mengurangi kerusakan sel pada musim dingin (winter): serangga dg senyawa gula, katak dg glukosa dan salamander dengan gliserol dalam "liver" nya sebagai cryoprotectant. Jenis cryoprotectant antara lain: propilen glikol (es krim), gliserol, DMSO (cryobiologist: sperma, embrio, sel mikroba dll), skim milk, sukrosa, dan PVP. Faktor yang mempengaruhi efektivitas pendinginan yaitu (1) faktor yang berasal dari mikroba itu sendiri. Beda mikroba, beda perilakunya pada suhu dingin. *Pseudomonas fluorescens* punya waktu generasi 6.7 jam pada 0,5°C,

tetapi 32,2 jam pada 0°C. *Bacillus* dan *Clostridium* mampu berkecambah pada suhu 4.5°C. *Aspergillus flavus* masih bisa membentuk toksin pada suhu refrigerator. Konidia beberapa spesies *Penicillium* mampu berkecambah pada suhu 4°C. (2) Komposisi produk pangan. Pangan dg protein, karbohidrat, lipid, pH sekitar 7, tanpa antimikrobia menyebabkan less death of microorganism karena adanya glass transition temperature. (3) Karakteristik mikroba. Bakteri gram negatif lebih rentan terhadap pembekuan dibandingkan dengan bakteri gram positif. Pembentukan pigment lebih intensif pada suhu refrigeration (beberapa yeast pembentuk pigment).

10. Pengendalian dengan Pengeringan beku (Freeze-drying).

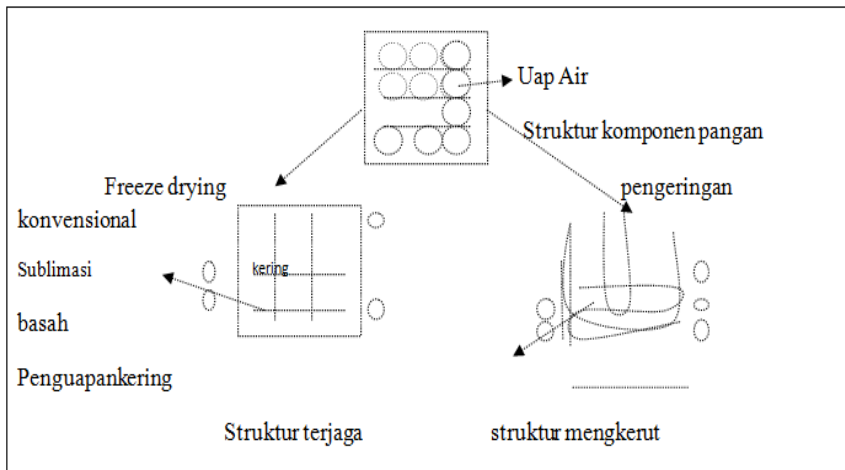
Freeze drying adalah proses pengeringan untuk mengawetkan bahan pangan atau non pangan yang mempunyai sifat mudah rapuh dan tidak tahan terhadap suhu panas. Freeze drying diaplikasikan di berbagai bidang pengolahan pangan, industri, farmasi, dan bioteknologi. Prinsip teknologi pengeringan beku dimulai dengan proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan. Pengeringan yaitu mengeluarkan/ memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi (Purwiyatno, 2013). Proses Sublimasi yaitu perubahan fase dari padat (es) ke uap. Agar produk pangan dalam kondisi beku di ruangan vakum (P dan T tetap) yaitu dipertahankan tetap dibawah triple point ($P_t=4,58$ torr), dan jika kemudian suhu produk dinaikkan secara terkontrol sampai mencapai 100°F (38°C) maka terjadi peristiwa sublimasi. Selama proses sublimasi, tekanan dipertahankan sekitar 0,0025 bar dan suhu dinaikkan secara terkontrol sampai mencapai 100°F (38°C). Jika kondisi ini dipertahankan, maka air (es) dalam bahan pangan secara kontinyu akan berkurang melalui proses sublimasi. Karena itu proses sublimasi dapat terjadi tanpa melalui proses pelelehan. Pada tahap ini terjadi penguapan air sehingga menghasilkan produk kering-beku. Bahan yang telah mengalami pengeringan beku lebih mudah ditransportasikan. Proses pengeringan beku dapat dijelaskan dengan menggunakan diagram fase air pada Gambar 6.3.



Gambar 6.3. Diagram proses pengeringan.

Dari Gambar tersebut dapat diketahui bahwa dengan mengendalikan kondisi tekanan (P) dan suhu (T), air dapat berbentuk gas (uap), cair (air) atau padatan (es). Pada kondisi tertentu yaitu pada kondisi tekanan 4,58 torr (610,5 Pa) dan suhu 0°C, air akan berada pada kondisi kesetimbangan antara uap, air dan es. Titik dimana terjadi kesetimbangan antar ketiga fase tersebut disebut sebagai titik triple. Titik triple untuk air terjadi pada pada tekanan (P) 4.58 torr dan suhu (T)=0°C. Untuk bahan dalam kondisi beku pada tekanan yang dipertahankan tetap dibawah tekanan triple (Pt 4,58 torr), dan kemudian suhu produk dinaikkan maka yang terjadi peristiwa sublimasi. jika kondisi ini dipertahankan maka es dalam bahan berkurang kontinyu melalui sublimasi. Mekanisme ini berbeda dengan proses pengeringan biasa; dimana pengeringan biasa terjadi melalui mekanisme penguapan (evaporasi) yang biasanya terjadi pada suhu tinggi. Perbedaan antara proses pengeringan beku dengan pengeringan biasa dapat diilustrasikan pada Gambar 6.4, proses pengeringan biasa terjadi melalui mekanisme penguapan pada suhu panas, sehingga bagian pangan yang kering akan terjadi perubahan kimia (gelatinisasi pati, karamelisasi gula, dan/ atau

denaturasi protein) yang menyebabkan terbentuknya kerak(crust) di permukaan; yang akan memberikan hambatan bagi difusi uap dari bagian basah ke udara lingkungan. Akibatnya, proses pengeringan akan terhambat dan terhenti, menghasilkan produk yang bagian luar sudah kering -bahkan terlalu kering dan menjadi kerak- tetapi bagian tengahnya masih basah. Kasus demikian sering disebut sebagai case-hardening.



Gambar 6.4. Diagram perbedaan pengeringan biasa dengan pengeringan beku.

Sedangkan proses pengeringan beku terjadi melalui mekanisme sublimasi yang terjadi pada suhu dingin. Karena itu, proses gelatinisasi, karamelisasi, dan denaturasi tidak terjadi, sehingga pada bagian pangan yang kering tidak terjadi perubahan pembentukan kerak. Dengan demikian, uap air bisa berdifusi dengan baik dari bagian basah ke udara lingkungan, sehingga bisa dihasilkan produk yang kering dengan baik. Secara detail, perbedaan utama antara pengeringan beku dengan pengeringan biasa dapat diamati pada Tabel 6.5.

Tabel 6.5. Perbedaan antara pengeringan beku dengan pengeringan biasa.

Kriteria	Pengeringan Biasa	Pengeringan Beku
Suhu pengeringan	37 – 93°C (tergantung tekanan dan aliran udara)	Dibawah titik beku
Mekanisme pengeringan	Penguapan (evaporasi)	Sublimasi
Laju pengeringan	Lambat dan tidak komplit	Cepat, dan lebih komplit
Tekanan	Umumnya pada tekanan atmosfer	Tekanan vakum
Mutu produk	Sering menghasilkan permukaan yang keriput, kurang porus, densitas tinggi, kurang mudah dibasahkan (disegarkan) kembali, warna kegelapan, mutu flavor, nilai gizi berkurang (lihat Gambar 3A).	Tidak mengakibatkan permukaan yang keriput, lebih porus, densitas lebih rendah, mudah disegarkan kembali, warna normal, mutu flavor dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan (Gambar 3B).
Biaya	Lebih murah	Lebih mahal
Kegunaan umum	Untuk pengeringan umum, cocok untuk sayur mayor dan biji-bijian, kurang cocok untuk daging dan produk daging.	Untuk produk dengan nilai ekonomi cukup tinggi, mikroenkapsulasi, produk instan, cocok untuk daging dan produk daging.

Beberapa hal yang perlu mendapatkan perhatian pada proses pengeringan beku adalah (1) produk kering-beku dikemas secara kedap (vacuum) karena sifat khas produk kering-beku adalah higroskopis sehingga pemilihan bahan kemasan sangat menentukan masa simpan produk, proses pengemasan hendaknya dilakukan segera setelah proses pengeringan- beku berakhir (2) proses pembekuan, dalam hal ini kecepatan pembekuan merupakan faktor utama yang mempengaruhi mutu produk. proses pembekuan dibedakan menjadi pembekuan cepat (-40°C) dan pembekuan lambat (-24°C), (3) Proses pengeringan (sublimasi) dilakukan dengan cara memasukkan produk beku ke dalam ruangan vakum. Harus dipertahankan bahwa kondisi proses (P dan T) tetap di bawah titik triple, tekanan ruangan sublimasi dipertahankan sekitar 0.036 psi atau sekitar 0.0025 bar, dan suhu kemudian dinaikkan secara terkontrol sampai mencapai sekitar 100°F (38°C) sehingga terjadi proses sublimasi, dan tidak terjadi proses pelelehan.

Keuntungan pengolahan menggunakan Freeze drying: produk stabil selama penyimpanan dalam jangka waktu panjang, rehidrasi produk berlangsung cepat, tidak terjadi perubahan aroma, maupun warna pada produk, lebih palatable, produk freeze drying tidak memerlukan proses refrigerasi selama penyimpanannya, mudah dalam penyimpanan, kekurangan teknik freeze drying adalah biayanya prosesing yang cukup mahal.

Efek freezing terhadap mikroorganisme

Freezing merupakan salah satu metode untuk mengawetkan culture mikroba dan freeze drying sebagai metode yang paling bagus. Freezing dapat membunuh mikroorganisme penting dalam makanan. Efek freezing terhadap mikroorganisme sebagai berikut:

1. Terjadi kematian yang tiba tiba pada suhu freezing, terhadap mikroorganisme tertentu.
2. Proporsi jumlah sel yang survive setelah freezing akan mati ketika disimpan pada suhu beku.
3. Penurunan jumlah sel cukup cepat pada suhu sedikit dibawah suhu beku, -2°C namun kematian agak lambat pada suhu makin rendah biasanya -20°C .

Bakteri bentuk coci lebih resiten dari bentuk rod Gram -. Golongan *Salmonella* sensitive dibanding *S. aureus*, dan golongan endospore dan toksin makanan pembawa racun tidak terpengaruh oleh suhu rendah. Dari sisi pengawetan makanan, maka perlakuan freezing buka sebagai alat untuk membunuh mikroorganism pembawa penyakit. Jenis mikroorganism yang kehilangan viabilitasnya selama freezing berbeda beda diantara strain yang berbeda dan tergantung pada tipe teknik freezing, komposisi dan sifat alami makanan, lama penyimpanan beku, suhu freezing. Suhu beku yang rendah sekitar -20°C tidak membahayakan mikroba dari pada suhu -10°C . Misalnya, mikroorganism paling banyak mati pada suhu -4°C dari pada suhu -15°C atau dibawahnya. Suhu dibawah -24°C tidak mempunyai efek terhadap mikroba. Penyusun makanan seperti putih telur, sukrosa, sirup jagung, ikan, gliserol, dan ekstrak daging mempunyai efek meningkatkan viabilitas sel selama freezing khususnya pada mikroba penyebab penyakit bawaan makanan. Sementara kandungan asam akan menurunkan viabilitas sel. Hal hal yang terjadi pada saat sel membeku.

1. Air yang membeku adalah air bebas. Pada saat membeku, air bebas membentuk Kristal es. Pada pembekuan lambat Kristal es yang terbentuk pada ekstraseluler, sedang pada pembekuan cepat Kristal es yang terbentuk di bagian intraseluler.
2. Pembekuan mengakibatkan meningkatnya viskositas komponen seluler, karena air membentuk Kristal es.
3. Pembekuan mengakibatkan kehilangan gas sitoplasma seperti O_2 , dan CO_2 . Kehilangan O_2 pada mikroba aerobik menekan reaksi respirasi. Juga tingginya difusi O_2 menyebabkan aktivitas oksidasi yang tinggi di dalam sel.
4. Pembekuan menyebabkan perubahan pH seluler.
5. Pembekuan berpengaruh pada konsentrasi elektrolit seluler. Hal ini disebabkan air yang membentuk Kristal es.
6. Pembekuan menyebabkan perubahan fase koloidal sitoplasma seluler. Banyak komponen protoplasma seluler seperti protein berada dalam fase colloidal yang dinamik

dalam sel hidup. Sehingga hal ini memerlukan fase air yang seimbang.

7. Pembekuan menyebabkan denaturasi sebagian protein seluler. Selama pembekuan gugus -SH hilang dan gugus lipoprotein memisahkan diri dari komponen lainnya. Menurunnya kandungan air bersamaan dengan konsentrasi elektrolit menyebabkan perubahan protein seluler.
8. Pembekuan mengakibatkan temperature shock bagi sebagian mikroba. Misalnya pada thermofil dan mesofil. Kebanyakan sel mati ketika suhu menurun di atas suhu freezing terjadi secara tiba tiba disbanding secara perlahan.
9. Pembekuan menyebabkan injuri metabolic terhadap beberapa mikroba seperti *Pseudomonas* spp. Sebagian besar mikroba memerlukan nutrisi yang lebih pada saat thawing dari freezing.

11. Pengendalian menggunakan Suhu Tinggi.

Pengolahan menggunakan suhu tinggi bertujuan untuk membunuh bakteri patogenik dan bakteri pembusuk tanpa merusak nilai nutrisi dan senyawa bermanfaat dari produk itu sendiri. Suhu tinggi dapat membunuh mikroorganisme melalui mekanisme denaturasi protein komponen komponen sel mikroorganisme. Golongan bakteri yang tidak memebntuk spora (non-sporeformer) yaitu antara lain *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Microbacterium*, *Micrococcus*. Golongan bakteri pembentuk sporayaitu antara lain *Bacillus*, dan *Clostridium*.

Pasturisasi

Dibedakan atas beberapa proses berdasarkan suhu dan lama waktu prosesing, yaitu *Low twmpwerature Long Time (LTLT)* adalah proses pengolahan yang menggunakan suhu 62,8°C/145°F selama 30 menit. Pengolahan dengan proses LTLT menggunakan system VAT.*High temperature Short Time (HTST)* yaitu pengolahan pada suhu 72°C/161°F selama 15 detik, menggunakan system sinambung (continuous). *Very high temperature (VHT)* pengolahan pada suhu tinggi dan tidak ada ketentuan besarnya suhu. *Ultra high temperature (UHT)* pengolahan menggunakan suhu 130°C selama 1

detik. Produk yang mengalami pengolahan teknik UHT akan stabil pada penyimpanan suhu ruang, namun proses UHT dapat menyebabkan kerusakan citarasa (flavor). Salah satu produk yang menggunakan pengolahan panas pasturisasi adalah produk susu. Pasturisasi susu bertujuan untuk membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan *Coxiella burnetii*. Pasturisasi susu sangat penting dan berkaitan dengan proses pembuatan keju, dimana jika suhu pasturisasi terlalu tinggi maka produk keju yang dihasilkan akan rendah (*low yields*). Golongan bakteri yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh proses pemanasan yaitu golongan bakteri thermodurik dan golongan thermofilik. Golongan bakteri thermodurik yaitu bakteri yang dapat survive atau bertahan hidup pada suhu pasturisasi. Bakteri thermofilik yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu tinggi atau bakteri yang menyukai/memerlukan suhu tinggi untuk pertumbuhannya.

Nilai D-value

D-value yaitu waktu yang diperlukan untuk menurunkan 1-unit log mikroorganisme. Beberapa faktor yang mempengaruhi *D-value* antara lain jumlah mikroorganisme, media/substrat tempat tumbuh mikroorganisme, waktu, suhu, adanya lemak dalam substrat, adanya garam dalam substrat, adanya karbohidrat dalam substrat, adanya protein dalam substrat, kandungan air substrat, keasaman substrat, umur sel mikroorganisme, adanya senyawa penghambat dalam substrat. Setiap mikroorganisme mempunyai nilai *D-value* yang berbeda. Misalnya *Bacillus stearothermophilus* mempunyai *D-value* 4 – 5 menit, *Clostridium sporogenes* mempunyai *D-value* 0,1 – 0,5 menit, dan *Clostridium botulinum* memiliki *D-value* 0,21 menit.

F-value

$$F = D\text{-value} (\log a - \log b)$$

1F = 1 menit pada suhu 250°F membunuh sejumlah x populasi mikroorganisme.

10 menit pada suhu 232°F membunuh sejumlah x mikroorganisme

100 menit pada suhu 214°F membunuh sejumlah x mikroorganisme.

Semua kombinasi waktu dan suhu akan membunuh sejumlah x-populasi mikroorganisme.

Lethalitas

Lethalitas yaitu laju kematian per menit.

$$F/t = 1 \frac{1}{\text{anti log} \frac{250-T}{z}}$$

Misalnya what is the lethality rate during heat treatment at 208°F?
Z + 18°F untuk *C. botulinum*.

$$\begin{aligned} F/t &= 1 \frac{1}{\text{anti log} \frac{250-T}{z}} \\ &= \frac{1}{\text{anti log} \frac{250-208}{18}} \\ &= \frac{1}{\text{anti log} \frac{42}{18}} = \frac{1}{\text{anti log} 2,33} = \frac{1}{214} = 0,05/ \text{menit} \end{aligned}$$

Faktor yang mempengaruhi ketahanan panas pada mikroba.

Air

Ketahanan terhadap panas sel mikroba meningkat dengan menurunnya humiditas, kandungan air atau a_w . Misalnya *Bacillus cereus* spora pada a_w 1,0 dan pH 6,5, maka D_{95} nya adalah 2,386 menit, sedangkan pada a_w 0,86, D_{95} nya adalah 13,842 menit. Sel mikroba kering yang diletakkan dalam tabung reaksi dan dipanaskan dalam waterbath adalah lebih resisten terhadap panas dibanding sel yang basah. Hal ini karena denaturasi protein terjadi lebih cepat terjadi ketika dipanaskan dalam air dari pada dalam udara, dan denaturasi protein menjadi penyebab kematian sel. Pemanasan protein basah menyebabkan pembentukan gugus -SH bebas dan mengakibatkan meningkatnya kapasitas pengikatan air dalam protein. Adanya air menyebabkan rusaknya ikatan peptide oleh panas, suatu proses yang memerlukan energi lebih besar dalam keadaan tidak ada air.

Lemak

Dengan adanya lemak, maka ketahanan terhadap panas sel mikroba meningkat. Lemak berfungsi sebagai pelindung sel dan menyebabkan meningkatnya ketahanan panas. Asam lemak rantai panjang adalah pelindung sel terhadap panas yang baik dibanding rantai pendek.

Jumlah mikroorganisme

Makin besar jumlah mikroba resistensi terhadap panas makin tinggi. Mekanisme perlindungan panas oleh jumlah populasi mikroba yang tinggi adalah disebabkan oleh produksi senyawa yang bersifat protektif oleh sel. Karena protein memberikan efek proteksi terhadap panas dan komponen ekstraseluler adalah protein maka jumlah sel yang besar dapat memberikan efek proteksi terhadap panas yang besar.

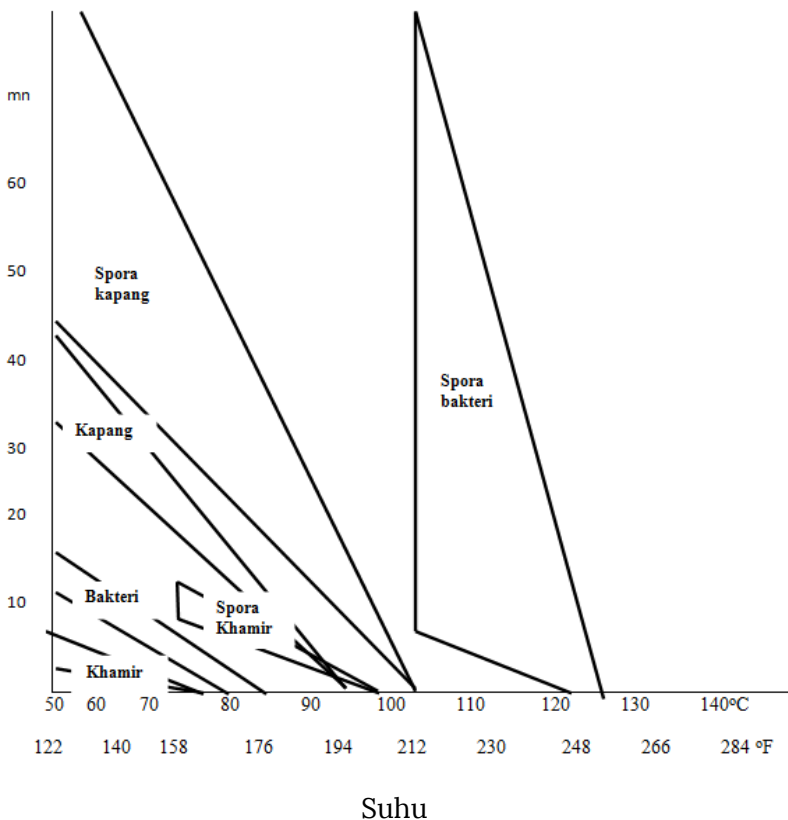
Garam

Pengaruh garam pada ketahanan panas sel mikroba bervariasi tergantung pada jenis garam, konsentrasi, dan faktor lain. Beberapa jenis garam mempunyai efek protektif terhadap sel mikroba dan jenis garam lain memberi efek sensitif terhadap panas. Garam dapat menurunkan aktivitas air (a_w) dan oleh karena itu meningkatkan ketahanan panas. Sementara garam lain seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+} menurunkan a_w sehingga meningkatkan sensitivitas terhadap panas. Medium pertumbuhan spora *Bacillus megaterium* dengan $CaCl_2$ menghasilkan spora yang memiliki ketahanan panas meningkat, sedangkan penambahan L-glutamat, L-prolin, atau fosfat ke dalam medium pertumbuhan menurunkan ketahanan panas sel.

Karbohidrat.

Adanya gula di dalam medium menyebabkan meningkatnya ketahanan panas sel mikroba yang direndam di dalam medium tersebut. Hal ini karena menurunnya a_w yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi gula. Namun demikian jenis gula yang berbeda mempunyai efek yang berbeda terhadap ketahanan panas sel mikroba. Sukrosa merupakan gula yang memberikan efek ketahanan panas sel mikroba paling besar, dan diikuti oleh glukosa > sorbitol > fruktosa > dan gliserol paling rendah.

pH. Mikroorganismenya adalah paling resisten terhadap panas pada pH optimum pertumbuhannya, dimana biasanya pada pH 7,0. Jika pH di atas atau di bawah optimum pertumbuhannya maka berakibat pada meningkatnya sensitivitas terhadap panas. Namun jika pemanasan diberikan pada makanan dengan kandungan asam tinggi, maka diperlukan suhu pemanasan yang lebih rendah. Pada pemanasan putih telur, penurunan pH telur menyebabkan baik mikroba maupun protein putih telur lebih stabil terhadap panas. Jika asam organik seperti asam laktat atau asam asetat digunakan untuk menurunkan pH maka terjadi penurunan terhadap ketahanan terhadap panas.



Gambar 6.5. Suhu yang diperlukan untuk membunuh mikroorganismenya. (Jay et al., 2005)

Protein dan senyawa lain.

Protein mempunyai efek melindungi mikroorganisme terhadap panas. Oleh karena itu, makanan dengan protein tinggi harus dipanaskan dengan suhu yang lebih tinggi dibandingkan dengan makanan dengan protein rendah.

Umur mikroba.

Sel bakteri memiliki resistensi terhadap panas yang tinggi pada fase pertumbuhan stasioner (sel tua) dan resistensinya menurun pada fase logaritmik. Resistensi terhadap panas juga ditunjukkan pada pertumbuhan sel fase Lag dan menurun pada saat memasuki fase log. Spora bakteri yang berumur tua juga lebih resisten terhadap panas dibandingkan spora sel muda.

Suhu pertumbuhan.

Resistensi terhadap panas sel mikroba meningkat pada suhu inkubasi yang semakin tinggi dan teruama terjadi pada pembentukan spora.

Senyawa inhibitor.

Resistensi terhadap panas sel mikroba menurun jika pemanasan berlangsung dalam medium yang mengandung antibiotik tahan panas, SO_2 , dan inhibitor mikroba lainnya. Penggunaan panas dengan tambahan antibiotik dan panas dengan tambahan nitrit lebih efektif untuk mengontrol mikroba pembusuk makanan, dibandingkan penggunaan panas saja.

Waktu dan suhu.

Semakin tinggi suhu maka makin besar efeknya terhadap kematian sel mikroba. Pada suhu tinggi maka waktu yang diperlukan untuk mematikan spora makin singkat. Ukuran container untuk pemanasan dan komposisi bahan container juga berpengaruh terhadap proses pemanasan. Kontaner yang besar memerlukan panas lebih lama dan bahan container yang bersifat penghantar panas, memerlukan waktu pemanasan yang lebih pendek. Pengaruh suhu dan waktu terhadap kematian mikroba dapat dilihat pada Gambar 6.5.

Efek ultrasonic

Endospore sel bakteri yang dipapar perlakuan ultrasonic sesaat sebelum atau selama proses pemanasan, maka menurunkan resistensi spora terhadap panas.

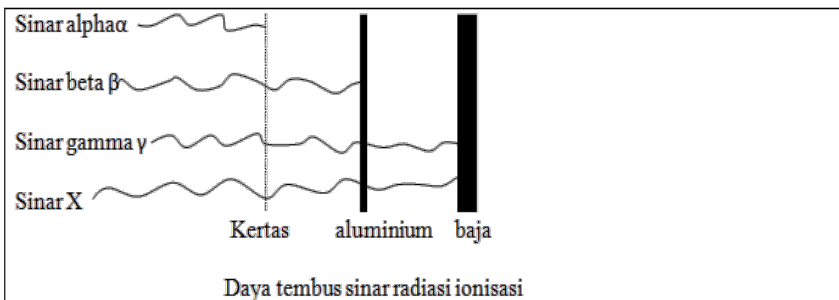
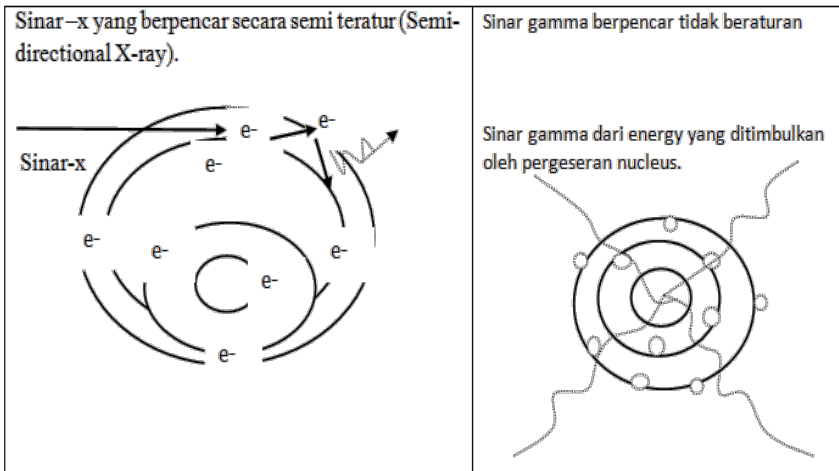
Mikroorganisme yang tahan terhadap panas.

Ketahanan panas mikroba berkaitan dengan suhu optimum pertumbuhannya. Psikrotrof paling sensitive terhadap panas diikuti oleh mesofil dan termofil paling resisten terhadap panas. Bakteri pembentuk spora lebih resisten terhadap panas disbanding bakteri non pembentuk spora, dan termofil pembentuk spora lebih resisten disbanding mesofil pembentuk spora. Gram positif lebih resisten disbanding Gram negative, dan bentuk coci lebih resisten dari entuk rod. Khamir dan kapang sensitive terhadap panas. Dan khamir pembentuk spora lebih resisten dari sel vegetative khamir. Spora aseksual kapang lebih resisten dari miselium kapang. Endospore mempunyai ketahanan panas yang tinggi karena berkaitan dengan adanya dehidrasi protoplasma, mineralisasi, dan adaptasi terhadap panas. Adanya kandungan senyawa asam dipikolinik yang hanya dimiliki oleh spora bakteri merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap sifat ketahanan panas.

12. Pengendalian menggunakan Radiasi

Penerapan proses pengolahan menggunakan radiasi mulai diteliti tahun 1940 an. Namun proses ini belum banyak digunakan sebagai salah satu teknik pengawetan produk pangan, disebabkan ketakutan manusia akan radiasi yang diduga mengakibatkan bahan pangan menjadi terkena radiasi (radiated foods). Proses pengolahan menggunakan radiasi memerlukan biaya yang cukup mahal, disamping itu produk pangan yang mengalami proses radiasi mengalami perubahan terhadap citarasanya atau disebut *flavor defects*. Proses pengolahan menggunakan radiasi menerapkan beberapa sinar radiasi yaitu sinar alpha (α), beta (β), gamma (γ), dan sinar- X. Sinar alpha mempunyai karakteristik antara lain mengandung unsur atom He^{++} , memiliki daya penetrasi (tembus) yang lemah, sinar alpha tidak diaplikasikan untuk pengolahan produk pangan, daya tembus sinar alpha dapat ditahan oleh kertas,

dan sinar alpha dapat dilanjutkan atau sinar alpha dapat menembus kertas. Sinar beta mengandung unsure elektron e^- , sinar beta dapat menembus kertas namun tidak dapat menembus aluminium, dan sinar beta juga dapat dilanjutkan. Sinar γ mempunyai orbital elektron e^- yang kembali ke shel asalnya memancarkan energy. Sinar gamma adalah energy yang ditimbulkan oleh perpindahan nucleus. Sinar-x dan sinar gamma memiliki energy, dapat menembus kertas dan aluminium tetapi tidak dapat menembus besi baja. Sinar x yang dipancarkan akan bergerak teratur (semi directional), sedangkan sinar gamma yang ditembakkan akan bergerak tidak terarah (non-directional).



Sinar Gamma

Jumlah sinar Gamma yang mengalami pemecahan (disintegration) suatu waktu tertentu disebut sebagai *disintegration*.

Disintegration mengikuti reaksi ordo 1 sebagai berikut: $I = I_0 e^{-\lambda t}$

Dimana: I = aktivitas pada t₂ (sekarang)

I₀ = aktivitas pada t₁ (awal)

-γ = nilai constant disintegrasi

t = t₂ - t₁

e = log¹⁰

Perhitungan:

$$I = I_0 e^{-\lambda(t_2-t_1)}$$

$$\log_e I = \log_e I_0 + \log_e e^{-\lambda t}$$

$$\log_e I = \log_e I_0 - \lambda t$$

$$\lambda t = \log_e I_0 - \log_e I$$

$$\lambda = \frac{2,303(\log I_0 - \log I)}{t}$$

$$\text{Disintegration konstan} = \frac{2,303(\log I_0 - \log I)}{t_2 - t_1}$$

Half life isotop

Half life paruh waktu adalah waktu yang diperlukan untuk mengurangi daya radioaktivitas separuhnya. Untuk mengetahui waktu paruh isotop perlu terlebih dahulu mengetahui nilai disintegrasi konstan. Waktu paruh adalah sebagai berikut:

$$t_{1/2} = \frac{2,303 \log 2}{\lambda}$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{\lambda}$$

$$\text{Co}^{60} = 5,7 \text{ tahun}$$

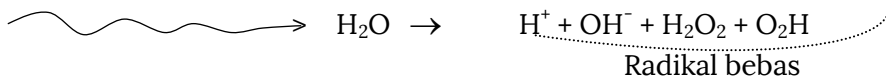
$$\text{Ce}^{137} = 30 \text{ tahun}$$

Radiasi ionisasi

Radiasi ionisasi langsung berpenetrasi melalui udara namun energi ini tidak mempunyai efek apapun kecuali telah terabsorpsi. Energi ini mampu merusak dan memecah komponen atau senyawa kimia. Satuan radiasi ionisasi adalah RAD (radiation absorbed dosage), dimana 1 R = 100 ergs/g dan 1 Gray = 100 rad (Gy).

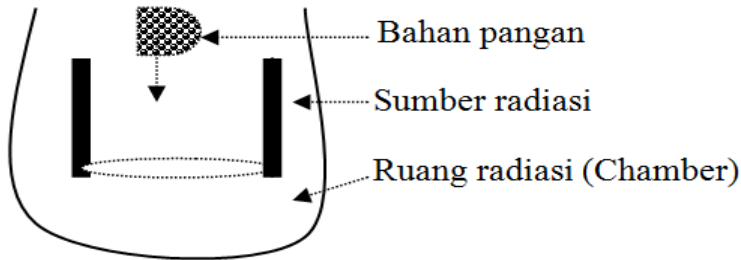
Daya mematkan dari sinar Radiasi.

Sinar radiasi mempunyai efek langsung yaitu dapat menembus langsung ke DNA atau molekul penting lain di dalam sel. Disamping itu, sinar radiasi mempunyai efek tidak langsung yaitu memecah molekul air dan menghasilkan radikal bebas seperti berikut ini:



Sinar radiasi merusak ikatan hidrogen H-H pada molekul-molekul penting di organisme. Sinar radiasi dapat berperan sebagai metode sterilisasi tanpa menggunakan panas, yang dapat dikelompokkan dalam metode sterilisasi dingin (cold sterilization).

Dalam penerapannya untuk pengolahan pangan, sinar radiasi dikelompokkan dalam beberapa istilah sesuai dengan penggunaannya, yaitu (1), radapertisasi yaitu sterilisasi komersial pada proses pengolahan pangan, radapertisasi menggunakan daya 30 - 40 kGy., (2) radisidasi yaitu pasturisasi untuk terutama memusnahkan mikroba patogen dalam susu menggunakan dosis radiasi 2,5 - 10 kGy., (3) radurisasi yaitu pasturisasi untuk membunuh mikroba pembusuk dalam pangan menggunakan dosis radiasi 0,75 - 2,5 kGy untuk daging segar, unggas, seafood, dan buah-buahan, sayuran, dan biji-bijian. Pada proses pengolahan menggunakan radiasi, maka pangan yang dipapar radiasi diletakkan di dalam suatu wadah atau chamber, seperti diagram di bawah ini:



Contoh perhitungan radiasi makanan. Jika suatu sumber radiasi dapat memancarkan radiasi sebesar 1,000,000 rad/jam dan produk pangan dipapar radiasi selama 30 menit. Berapa banyak dosis radiasi yang diterima oleh produk pangan tsb? Jawabnya 500,000 rads.

Perhitungan Paruh Waktu sinar radiasi (Half-life)

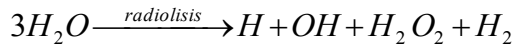
Jika suatu komponen radioaktif dapat memancarkan aktivitas sinar gamma sebesar 10,000,000 rad/hari di tahun 1972. Komponen radioaktif yang sama memancarkan sinar radioaktif 1,000,000 rad/hari pada th 1991. Berapakan paruh waktu (Half-life) isotope dalam ukuran tahun? Perhitungan:

$$\begin{aligned} \Lambda &= \frac{2,303(\log 10^7 - 10^6)}{19} \\ &= \frac{2,303(1)}{19} \\ &= 0,121 \text{ dosis/tahun} \end{aligned}$$

$$\text{Half-life} = t_{1/2} = \frac{0,693}{0,121} = 5,7 \text{ tahun}$$

Efek penggunaan iradiasi pada produk pangan.

Perubahan pada pangan yang tidak diinginkan biasanya terjadi secara langsung disebabkan oleh proses iradiasi dan secara tidak langsung disebabkan adanya reaksi kimia dalam pangan setelah proses iradiasi. Air melangsungkan proses radiolysis ketika terjadi iradiasi sebagai berikut:



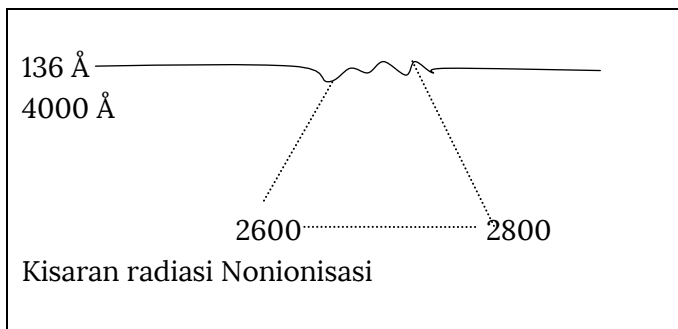
Iradiasi kondisi anaerobic dapat mengurangi terbentuknya off-flavor dan off-odor karena kekurangan oksigen untuk membentuk peroksida. Salah satu cara untuk meminimalisasi off-flavor adalah melakukan iradiasi dalam kondisi suhu subfreezing. Subfreezing dapat mengurangi radiolysis dan reaktan yang terbentuk.

Selain air, protein dan komponen nitrogen tampak lebih sensitive terhadap iradiasi pangan. Produk yang dihasilkan sebagai hasil iradiasi asam amino, peptide, dan protein tergantung pada dosis iradiasi, suhu, jumlah oksigen, jumlah kandungan air, dan faktor lain. Produk hasil iradiasi terhadap senyawa tersebut antara lain NH_3 , hydrogen, CO_2 , H_2S , amida, dan karbonil. Asam amino aromatic lebih sensitive terhadap iradiasi dan mengakibatkan perubahan struktur cincin. Asam amino yang paling sensitive seperti metionin, sistein, histidine, arginine, dan tirosin sangat sensitive terhadap iradiasi. Iradiasi pangan yang mengandung fat dan lipid menghasilkan produk karbonil dan produk teroksidasi lain seperti peroksida, terutama jika iradiasi berlangsung dengan adanya oksigen. Kerusakan lipid yang disebabkan oleh iradiasi menghasilkan rabsiditas. Kerusakan lain adalah terhadap vitamin B terutama pada produk oyster yaitu thiamin, niasin, piridoksin, biotin dan vitamin B_{12} . Selain kerusakan di atas, iradiasi menyebabkan pelunakan jaringan buah dan sayuran karena terjadi degradasi pectin dan selulose, struktur polisakarida jaringan tanaman. Mikroorganisme yang paling sensitive terhadap iradiasi adalah bakteri Gram - rod seperti golongan pseudomonad, sel coci bakteri Gram -, dan *Acinetobacter* merupakan bakteri Gram - yang paling resisten. Bakteri yang paling resisten terhadap iradiasi adalah 4 genus bakteri nonsporeforming yaitu *Deniobacter*, *Rubrobacter*, *Deinococcus*.

Bakteri ini resisten karena mempunyai karakteristik memiliki pigmen merah tidak larut air, optimum pertumbuhan 30°C, mengandung L-ornitin, dan memiliki komposisi %ase G+C antara 62-70%, tidak mengandung asam teikoat, dan yang paling spesifik adalah memiliki membrane luar, tidak seperti bakteri Gram + lainnya. Kelemahan penggunaan metode radioaktif dalam pengolahan produk pangan antara lain menimbulkan masalah rekontaminasi, menimbulkan kekebalan terhadap radioaktif jika pangan yang diradiasi tidak terpapar secara cukup dan benar, menimbulkan bahaya kesehatan bagi pekerja, persepsi konsumen terhadap produk pangan yang diolah dengan radiasi sangat kurang baik, dapat menimbulkan pengurangan nilai gizi makanan terutama kandungan sukrosa, menimbulkan bau radioaktif.

Radiasi sinar Ultra violet

Radiasi sinar ultraviolet berada pada kisaran gelombang cahaya 2000Å hingga 2800Å. Radiasi pada gelombang cahaya 2600Å terserap oleh senyawa DNA dan mengakibatkan mutasi gen, kerusakan DNA yang dapat mengakibatkan kematian. Sinar ultraviolet memiliki daya penetrasi yang lemah, hanya mengenai bagian permukaan subjek yang dipapar radiasi, hanya digunakan untuk sterilisasi udara dan lapisan air yang tipis, menimbulkan bau radiasi, sehingga tidak baik digunakan untuk pengolahan produk pangan.



Microwave

Microwave merupakan alat pemanas makanan yang menggunakan gelombang elektromagnetik. Gelombang elektromagnetik pada microwave berada pada frekuensi sekitar 2450 MHz, yaitu $\lambda = 12,24$ cm. Teknik pengolahan microwave merupakan radiasi nonionisasi, adalah pengolahan panas yang ditimbulkan oleh tumburan/vibrasi molekul hydrogen pada frekuensi 915 hingga 2450 MHz. Menurut Soesanto (2007), penggunaan energi gelombang mikro pada microwave termasuk mekanisme perpindahan panas secara radiasi. Radiasi merupakan perpindahan panas dari suatu benda ke benda lainnya, tanpa adanya kontak fisik, melalui gerakan gelombang. Menurut Taylor (2005), mekanisme dasar dari pemanasan gelombang mikro disebabkan adanya agitasi molekul-molekul polar atau ion-ion yang bergerak (oscillate) karena adanya gerakan medan magnetik atau elektrik. Adanya gerakan medan magnetik dan elektrik menyebabkan partikel-partikel mencoba untuk berorientasi atau menyesuaikan dengan medan tersebut. Pergerakan partikel-partikel tersebut dibatasi oleh gaya pembatas (interaksi partikel dan ketahanan dielektrik). Hal ini menyebabkan gerakan partikel tertahan dan membangkitkan gerakan acak sehingga menghasilkan panas. Panas yang ditimbulkan oleh tumburan molekul ini dapat mematikan mikroorganisme. Perbedaan pengolahan menggunakan microwave dengan pemanasan biasa (konvensional) adalah sebagai berikut:

<p>Konvensional:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Panas yang tiagian timbul berasal dari luar produk masuk ke dalam produk. 2. Proses pengolahan terjadi lambat dengan kisaran waktu menit hingga jam. 	<p>Microwave:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Panas yang timbul berasal dari dalam produk pangan dan merambat ke luar produk. 2. Proses pemanasan terjadi sangat cepat. 3. Tergantung dari kondisi produk pangan, pada produk pangan basah proses pemanasan lebih cepat. produk pangan yang kering, prose pemanasan berjalan lambat.
--	--

Thawing dengan microwave.

Thawing atau melelehkan produk pangan yang membeku. Thawing dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain (1) menyimpan produk di dalam regrigerasi, atau (2) dengan microwave. Thawing dengan cara merendam produk beku di dalam air tidak dianjurkan dengan alasan kontaminasi, kerusakan tekstur, kehilangan nutrisi, dan proses pelelehan yang tidak merata. Thawing menggunakan microwave mempunyai kelebihan yaitu memerlukan energi minimal, terjaga dari kontaminasi, waktu pelelehan yang cepat meminimalisir kerusakan tekstur dan kehilangan nutrisi. Namun, distribusi panas yang tidak merata merupakan salah satu kendala proses thawing menggunakan microwave. Disamping itu, wadah dengan bahan yang mengandung partikel metal menyerap energi microwave menyebabkan kenaikan panas yang sangat cepat dan mengakibatkan kenaikan suhu dalam produk pangan. Produk pangan yang berbeda dapat dilakukan thawing atau diolah sekaligus di dalam microwave. Kemasan produk pangan sebagai hal yang perlu diperhatikan dalam menggunakan microwave sebagai alat pengolahan. Dari segi keamanan penggunaan microwave, pengguna sangat perlu memahami cara mengoperasikan microwave sehingga edukasi diperlukan dalam hal ini. Aspek mikrobiologi penggunaan microwave adalah bahwa paparan dalam microwave dalam waktu pendek suhu yang ditimbulkan rendah, 95% daya bunuh

microorganism yang dipapar dalam microwave diakibatkan oleh adanya panas yang dihasilkan oleh microwave sedang 5% nya tidak diketahui.

Efek thawing pada mikroorganisme. Proses freezing dan thawing berulang ulang akan mematikan mikroorganisme karena terjadi kerusakan membrane sel. Semakin cepat proses thawing makin banyak mikroorganisme yang survive.

13. Pengendalian dengan high pressure processing (HPP).

Penggunaan HPP atau pascalisasi untuk mengurangi atau membunuh mikroba telah berlangsung sejak 1884. High hydrostatic pressure (HHP) adalah HPP menggunakan air sebagai mediumnya. HHP dapat digunakan pada suhu ruang dengan kelebihan bahwa sayuran, bentuk, warna, dan nutrisi dari produk pangan tidak terpengaruh. Paling tidak menggunakan paling kecil 10 HHP untuk pengolahan produk pangan seperti jam, jus buah, cake telah dipraktekkan sejak tahun 1990. Pengolahan HPP menggunakan HHP, dimana diperlukan satu unit camber (silinder baja) dan pompa bertekanan untuk membuat tekanan beberapa ratus megapascal (MPa) (1MPa = 10 atm; 100 MPa= 1 kbar). Naik dan trunnya waktu tekanan sangat penting dalam proses HHP, biasanya menggunakan 2-3 MPa/detik. Setelah produk dikemas dalam wadah dan di tutup rapat, produk diletakkan dalam camber silnder mengandung cairan bertekanan rendah seperti air. Tekanan ditimbulkan dengan pompa, dan dilakukan secara static maupun secara bergantian. Perlakuan HHP terhadap *Zygosaccharomyces bailii* secara oscilatori pada tekanan 276 MPa dengan lama waktu proses 20 menit menghasilkan penurunan sel dari $1,6 \times 10^6$ cfu/ml menjadi <10cfu/ml.

Beberapa prinsip dan efek HHP pada produk pangan dan mikroba.

Berikut ini adalah beberapa hal efek HHP yang penting dalam pengawetan makanan.

1. Tekanan hydrostatic (hydrostatic pressure) adalah proses non termal, dan tidak merusak ikatan kovalen, sehingga flavor tidak terpengaruh. HHP efektif pada suhu ruang dan suhu refrigerasi, dan ikatan hydrogen menjadi lebih kuat.

2. Pada tekanan 400-600 MPa protein mengalami denaturasi.
3. Tekanan hingga 450 MPa menginaktifkan sel vegetative dengan urutan sensitivitas sebagai berikut: sel eukariotik lebih sensitive dari Gram negative > fungi > Gram positif > endospore bakteri. Sel pada fase stasioner lebih resisten dari fase logaritmik.
4. Mikroba dalam produk kering seperti spices bumbu adalah sangat resisten terhadap HHP (baroresisten). Umumnya baroresisten meningkat dengan menurunnya a_w .
5. Tekanan 450-800 MPa diperlukan untuk menghancurkan pembentuk spora pada kondisi optimum.
6. Morfologi sel berubah dan ribosom mengalami kerusakan.
7. Terjadi perubahan pada kompleks ikatan lipid-protein membrane sel, dan akibatnya meningkatkan fluiditas membrane. Rusaknya asam nukleat sel terjadi jika dipapar pada 200-400 MPa.
8. Terjadi inaktivasi enzim ATPase (adenosintrifosfatase), dan mengakibatkan kekurangan ATP seluler, namun enzim oksidatif pada buah buahan adalah *baroresisten*.
9. Walaupun HHP biasanya kurang efektif melawan dinding sel bakteri, namun terdapat sinergisme diantara perlakuan HHP dan bakteriosin bakteri Gram positif maupun negative, dan dengan adanya panas, pHrendah, CO_2 , dan lisozim. Oleh karena itu HHP dapat digunakan dalam system Hurdle.
10. Sel Injuri yang disebabkan oleh HHP dapat rekoveri dan dapat tumbuh kembali sehingga perlu diantisipasi.
11. Endospore bakteri adalah resisten terhadap HHP, namun jika endospore mati dapat disebabkan oleh adanya kerusakan sel vegetatifnya.

3. RINGKASAN

Tujuan pengendalian mikroba dalam pangan adalah untuk meminimalkan jumlah mikroba di dalam pangan. Dapat dilakukan melalui beberapa metoda antara lain yaitu (1) mencegah masuknya mikroba ke dalam pangan/ mencegah kontaminasi, (2) membunuh mikroba yang ada di dalam pangan secara fisik, antara lain menggunakan pemanasan, (3) mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroba dan spora yang telah ada dalam pangan, dan (4) membunuh sel mikroba dan spora yang ada dalam pangan. Prinsip dalam metoda pengendalian mikroba akan lebih efektif jika jumlah mikroba rendah, sel mikroba dalam fase logaritmik, spora lebih resisten dari sel vegetatif mikroba terhadap metoda pengendalian yang diterapkan, sel Gram negatif lebih mudah mati dari Gram positif, bakteri, khamir, kapang, fage, dan virus mempunyai Resistensi berbeda terhadap metoda pengendalian.

Pengendalian dengan menurunkan nilai a_w bertujuan untuk (a) mencegah atau mengurangi pertumbuhan sel vegetative dan perkecambahan dan pertumbuhan spora mikroba, (b) mencegah produksi toksin oleh kapang dan bakteri.

Pengendalian dengan Modified Atmosphere yaitu mengubah/ memodifikasi komposisi udara di dalam kemasan karena selama penyimpanan, gas di dalam atmosfer kemasan akan berubah yang diakibatkan oleh hasil metabolisme produk dan mikrobial, dan juga adanya permeabilitas gas dari udara luar ke dalam kemasan melalui material kemasan.

Pengendalian dengan menurunkan pH bertujuan (1) menurunkan pH produk menggunakan asam lemah dalam upaya menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroba. Pada saat pH makanan turun <5 maka mikroba akan mati. Tetapi penurunan pH tidak bisa digunakan untuk tujuan membunuh mikroba dalam pangan karena laju kematian mikroba tidak bisa diukur secara akurat seperti pada proses pemanasan.

Pengendalian menggunakan Garam karena garam pada konsentrasi tinggi menghasilkan efek mengeringkan baik terhadap makanan maupun mikroba. Pengendalian menggunakan Gula dalam hal ini sukrosa, menghasilkan efek mengawetkan dengan mekanisme yang

sama dengan garam yaitu menyebabkan air tidak tersedia untuk pertumbuhan mikroba.

Pengendalian menggunakan bahan dengan efek antimikroba secara tidak langsung adalah senyawa dan produk dalam pembahasan ini adalah ditambahkan ke dalam bahan pangan dengan tidak mengharapkan adanya efek antimikroba secara langsung, sehingga bersifat bahan tambahan multifungsional. Senyawa tersebut antara lain meliputi antioksidan, agensia flavoring, spices dan minyak esensial, fosfat, asam asetat, asam laktat, antibiotic dan agensia anti fungi.

Pengendalian dengan biocontrol adalah penggunaan satu atau lebih organisme untuk mengontrol atau menghambat pertumbuhan organisme lainnya. Mekanisme pengendalian biocontrol melalui peristiwa microbial interference, lactic antagonism, produksi nisin dan bakteriosin, dan penggunaan bakteriofage.

Pengendalian dengan high pressure processing (HPP) adalah menggunakan air sebagai mediumnya. Kelebihan metode HHP dapat digunakan pada suhu ruang, proses non termal, dan tidak merusak ikatan kovalen, sehingga flavor tidak terpengaruh, bentuk, warna, dan nutrisi dari produk pangan tidak terpengaruh.

LATIHAN

1. Mekanisme perlakuan suhu rendah pada bahan pangan bertujuan untuk memperpanjang masa simpan produk itu sendiri. Proses ini melalui mekanisme yaitu :
 - a. Mengurangi atau menghentikan kegiatan enzimatik
 - b. Mengurangi atau menghambat pertumbuhan mikroba
 - c. Mengurangi populasi mikroba atau mematikan sebagian
 - d. Betul semua
2. Pendinginan yang biasa dilakukan sehari-hari dalam lemari es pada umumnya mencapai suhu :
 - a. 5 – 8 oC.
 - b. 7 - 11oC
 - c. 9 - 13 oC.
 - d. 10 - 15oC.
3. Pada setiap penurunan suhu 10oC terjadi kali lipat penurunan laju reaksi kimia.
 - a. 2.
 - b. 3.
 - c. 4.
 - d. 5
4. Selama penyimpanan suhu dingin terjadi perubahan fisiologi pada mikroorganisme golongan psikrotrof yaitu :
 - a. Laju metabolisme yang tinggi.
 - b. Beberapa psikrotrof memproduksi sel yang lebih besar.
 - c. Psikrotrof tidak mudah terpengaruh oleh kondisi aerasi.
 - d. Beberapa psikrotrof menunjukkan kebutuhan nutrisi senyawa organik yang menurun.
5. Pada proses fast freezing pembentukan kristal es terjadi di :
 - a. Dalam sel.
 - b. Di antara sel.
 - c. Di luar sel.
 - d. Di dalam dan luar sel.

6. Kondisi rusaknya penampakan permukaan bahan pangan (misalnya daging) yang terlihat sebagai spot spot putih kusam dipermukaan daging yang disebabkan oleh berpindahnya air dari permukaan bahan makanan ke udara di dalam freezer disebut :
 - a. Freezing damage.
 - b. Freezing periode.
 - c. Freezing burn.
 - d. Freezing spot.

7. Prinsip teknologi pengeringan beku dimulai dengan :
 - a. Proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan.
 - b. Proses pengeringan pangan, dan dilanjutkan dengan pembekuan.
 - c. Proses pemanasan bahan pangan, dan dilanjutkan pembekuan.
 - d. Proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pemanasan.

8. Titik dimana terjadi kesetimbangan antara gas (uap), cair (air) atau padatan (es) disebut titik :
 - a. Titik kesetimbangan.
 - b. Double.
 - c. Triple.
 - d. Quarter.

9. Bakteri *Bacillus stearothermophilus* mempunyai D-value selama :
 - a. 4 – 5 menit.
 - b. 0,1 – 0,5 menit.
 - c. 0,21 menit.
 - d. 5- 10 menit.

10. Beberapa faktor yang menyebabkan ketahanan terhadap panas sel mikroba meningkat kecuali
- Protein.
 - Lemak.
 - Karbohidrat
 - Air.
11. Radapertisasi yaitu sterilisasi komersial pada proses pengolahan pangan, radapertisasi menggunakan daya radiasi sebesar :
- 10 - 20 Grey.
 - 20 - 30 Grey.
 - 30 - 40 Grey.
 - 40 - 50 Grey.
12. Radiasi sinar ultraviolet berada pada kisaran gelombang cahaya :
- 2000Å hingga 2800Å.
 - 3000Å hingga 3500Å.
 - 4000Å hingga 4800Å.
 - 5000Å hingga 5800Å.
13. Microwave merupakan alat pemanas makanan yang menggunakan :
- Gelombang suara.
 - Gelombang udara.
 - Gelombang elektromagnetik.
 - Gelombang magnet.
14. Penggunaan energi gelombang mikro pada microwave termasuk mekanisme perpindahan panas secara :
- Radiasi.
 - Irradiasi.
 - Konduksi.
 - Konveksi.

15. High hydrostatic pressure (HHP) adalah HPP(High Pressure Processing) yang menggunakan sebagai mediumnya.
- Tekanan.
 - Air.
 - Panas.
 - Gas.

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay, et al., 2005. Modern Food Microbiology.

Purwiyatno, H. 2013. Freezing Drying Technology

Daniel Y.C Fung and Susan Y. Goetsch, 1992. Syllabus for Food Microbiology.

Kunci Jawaban.

- | | |
|-------|--------|
| 1. d. | 9. c. |
| 2. a. | 10. a. |
| 3. a. | 11. d. |
| 4. b. | 12. c. |
| 5. a. | 13. a. |
| 6. c. | 14. c. |
| 7. b. | 15. a. |
| 8. a. | |

BAB VII

MIKROBA PATOGEN MAKANAN

Capaian pembelajaran: mampu menjelaskan tentang karakteristik mikroba pathogen yang dibawa oleh makanan dan dapat menyebabkan penyakit pada manusia.

1. PENDAHULUAN

Keracunan makanan dan penyakit karena mengkonsumsi buah dan sayuran segar mengindikasikan adanya kontaminan yang berasal dari pestisida, mikroba, dan logam berat dalam bahan makanan tersebut. WHO mendefinisikan penyakit asal pangan (food borne diseases) sebagai penyakit yang umumnya bersifat infeksi atau racun yang disebabkan oleh senyawa yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang dikonsumsi. Menurut FDA Amerika Serikat, penyakit asal pangan yang disebabkan oleh kontaminasi mikroba menempati urutan pertama di atas racun alami, residu pestisida, dan bahan tambahan pangan. Beberapa istilah penting yang perlu diketahui dalam mempelajari mikroba penyebab penyakit yang dibawa oleh makanan: Epidemiologi yaitu ilmu yang mempelajari penyebab dan efek penyakit yang berkaitan dengan suatu populasi. Endemic yaitu laju terjadinya penyakit dalam suatu waktu. Epidemic yaitu laju terjadinya penyakit dalam jumlah yang tinggi. Pandemic yaitu laju terjadinya penyakit seluruh dunia. Etiologi yaitu ilmu yang mempelajari agensia penyebab penyakit,

dan dapat diisolasi dari sumbernya. Outbreak yaitu kejadian penyakit dari suatu sumber. Foodborne diseases atau penyakit bawaan makanan yaitu penyakit yang disebabkan kontaminasi bahan pangan oleh mikroba pathogen. Food borne diseases dapat dikelompokkan menjadi keracunan makanan (food poisoning) dan infeksi makanan (Food infection). Keracunan makanan timbul akibat memakan makanan yang mengandung toksin, dan sel mikroba belum tentu masih hidup. Infeksi makanan timbul akibat memakan makanan yang mengandung mikroorganisme pathogen.

Food borne intoksikasi yaitu menelan makanan yang mengandung senyawa racun baik senyawa kimia maupun biologi, dan dapat juga tidak ditemukan atau ditemukan mikroba di dalam makanan tersebut dalam waktu cepat. Food borne infeksi yaitu menelan makanan yang mengandung mikroba pathogen dan menimbulkan sakit dalam waktu yang lambat. Mikroba yang terdapat dalam makanan dan tertelan paling tidak berjumlah 10^6 sel/gram. Intoksikasi yaitu bila makanan minuman yang ditelan mungkin mengandung komponen beracun dan disebut sebagai intoksikasi. Makanan minuman yang ditelan mungkin mengandung mikroba dalam jumlah yang cukup untuk dapat menimbulkan gejala sakit dan disebut sebagai infeksi.

2. PENYAJIAN

1. Foodborne intoksikasi

Intoksikasi yaitu keracunan dapat terjadi karena tertelannya suatu toksin. Jenis toksin meliputi komponen anorganik seperti sianida pada singkong, komponen organik tumbuhan seperti gosi-pol dan visin. Toksin hewan seperti skrombotoksin, tetrodoksin. Toksin hasil metabolisme sel mikroba tertentu. Contoh intoksikasi yaitu botulisme (botulinum), racun *Staphylococcus aureus*, racun bongkrek (*Pseudomonascocovenenans*), aflatoksin (*Aspergillus flavus*). Infeksi yaitu masuknya mikroba ke dalam tubuh menembus pertahanan tubuh dan hidup serta berkembang biak dalam tubuh. Gejala yang ditimbulkan antara lain demam (pada intoksikasi tidak ada gejala demam).

1.1. Keracunan oleh *Staphylococcus aureus*.

S. aureus merupakan mikroba patogen opportunistic, menghasilkan racun yang disebut staphylococcal enterotoksin. *S. aureus* merupakan bakteri yang ubiquitous, ditemukan pada kulit dan saluran pernapasan manusia, berpengaruh dan dapat tumbuh dalam hampir semua jenis makanan, toleran terhadap kadar garam. Ketahanan *S. aureus* terhadap panas ditunjukkan dengan nilai D pada 77°C selama 0,001 - 0,0105 menit, nilai Z adalah 8 - 12°C. Enterotoksin sangat tahan panas pada suhu 100°C. Pencegahan terhadap racun staphylococcal enterotoksin adalah dengan menjaga makanan panas dalam keadaan panas, dan makanan dingin dalam keadaan dingin (keeping hot food hot cold food cold). Staphylococcal enterotoksin berpengaruh pada usus, toksin protein, dengan ukuran 34000 Dalton sebagai molekul toksin yang sangat kecil, tahan terhadap panas, sehingga sekali diproduksi sangat susah untuk dihancurkan, dan dapat dimusnahkan dengan sterilisasi selama 30 menit. Menghasilkan 7 macam enterotoksin A, B, C1, C2, C3, D dan E. Enterotoksin-B dihasilkan sebagai produk metabolit sekunder yang diproduksi selama pertumbuhan stasioner. Keracunan yang ditimbulkan dengan gejala muntah, kram perut, tanpa demam, dan diare, serta dapat mengakibatkan tidak sadarkan diri dan dehidrasi pada kasus yang berat. Masa inkubasi 1 - 6 jam, dan gejala utama pada 6 - 24 jam.

1.2. Keracunan oleh *Clostridium*.

Clostridium botulinum adalah bakteri Gram+ rod, anaerob dan menghasilkan endospore. Pemanasan dan pengemasan makanan dapat membunuh sel vegetative namun tidak membunuh spora. *C. perfringens* merupakan bakteri penyebab keracunan utama di AS (248000 kasus). Keracunan timbul akibat proses pemasakan yang kurang sempurna. Pembentukan endotoksin dipicu oleh lingkungan di dalam usus manusia. *C. botulinum* menghasilkan racun yang disebut botulin dengan BM 1×10^6 Dalton sebagai molekul toksin yang sangat besar. Botulin tidak tahan terhadap panas dan rusak pada pemanasan mendidih selama 10 menit. Botulin sangat beracun dan digunakan sebagai senjata biologi dimana 1 oz botulin murni dapat membunuh 200 juta orang. Keracunan yang ditimbulkan oleh

botulin ditandai dengan muntah, lemah, dizzy, vertigo, dan pandangan ganda yang timbul setelah 18-96 jam tertelannya racun. Botulin berpengaruh pada system saraf, kelumpuhan, dan kematian dapat terjadi karena asphyxiation.

1.3. Keracunan oleh *Escherichia coli*.

E. coli merupakan flora normal dalam tubuh manusia. Beberapa strain menghasilkan toksin. *E. coli* digolongkan menjadi *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC).

1. *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC): menghasilkan toksin verotoksin serogrup 0111:0157. Menyebabkan hemoragic diarrhea, gagal ginjal.
2. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC): menghasilkan enterotoksin yang heat labil, traveler's diarrhea banak menjangkit turis.
3. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC): mengakibatkan diare tapi tidak menghasilkan enterotoksin. Umumnya menyerang bayi atau anak kecil.
4. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC): penyakit parasite di usus besar, watery to bloody diarrhea. Keracunan terbaru adalah keracunan makanan karena *E. coli* dalam sayuran bayam dan daun selada pada September-Oktober 2006.

1.4. Keracunan oleh cendawan.

Aflatoksin

Aspergillus flavus menghasilkan racun yang disebut aflatoksin yang bersifat karsinogenik, dengan batasan limit 20ppb dalam makanan. Aflatoksin disebarkan melalui system ekologi, seperti sapi makan toksi, dan toksin terkandung di dalam susu. Keracunan oleh cendawan jenis *Mycetismus*. Berdasarkan sasaran toksin ada 5 golongan toksin yaitu: gastrointestinal, cerebral, blood dissolving, syaraf, choleriform (saluran system pencernaan). Beberapa jenis cendawan yang menghasilkan toksin yaitu *Coprinus sp*, *Clitocybe dealbata*, *Boletus satanas*, *Inocybe lanuginella*, *Boletus splendidus*. Golongan cendawan halusinogenik yaitu *Amanita*

muscaria, *Psilocybe cubensis*, *Lycoperdon* sp. Senyawa halusinogenik seperti asam ibotenik, muscarine. Akibat pada manusia mirip dengan efek narkoba. Perbedaan antara eksotoksin dan endotoksin. Eksotoksin dihasilkan oleh sel, dan dibebaskan keluar sel namun selnya tetap melekat. Endotoksin adalah merupakan bagian dari dinding sel, dan toksin dibebaskan bersamaan dengan pecahnya sel.

2. Food borne infeksi

Food borne infeksi yaitu harus menelan organisme hidup sejumlah $10^4 - 10^8$ sel/gram untuk timbulnya suatu penyakit. Sel mikroba yang tertelan selanjutnya dalam usus lisis dan membebaskan endotoksin dan biasanya memerlukan waktu 24 jam.

2.1. Infeksi Salmonella.

Salmonella termasuk Enterobacteriaceae, Gram - batang pendek, dapat memfermentasi glukosa tapi tidak dapat memfermentasi laktosa, ubiquitous khususnya dalam unggas dan telur. Infeksi salmonella seperti demam typhoid, pendarahan dalam organ, dan dalam gastrointestinal (usus) infeksi salmonella tidak akan menyebar ke organ lain, berakhir dalam 3-4 hari dan dapat menyebabkan kematian pada anak dan orang tua. Gejala yang ditimbulkan adalah mual, muntah, diare, demam dan sakit kepala. Menimbulkan infeksi pada saluran pencernaan (gastrointestinal tract) dan tifus (typhoid fever). Pasien yang telah terinfeksi salmonellosis dapat sebagai pembawa yang tidak menunjukkan gejala sakit. Sumber utama bakteri salmonella adalah usus hewan berdarah panas. Kontaminasi pada bahan pangan terjadi apabila tempat pemrosesan kotor. Hewan ternak sering juga menjadi sumber *Salmonella*. Kasus terbaru adalah salmonella ditemukan dalam selai kacang (peanut butter) pada Februari -Maret 2007. *Salmonella enteridis*, *S. typhi*. Biasanya ditimbulkan dalam 30-40% dari daging ayam mentah. *Salmonella* mudah mati oleh pemanasan, oleh karena itu masalah makanan dengan baik dan benar.

2.2. Infeksi oleh *Clostridium perfringens*.

C. perfringens adalah Gram +, anaerobic, menghasilkan enterotoksin, tidak dapat membentuk spora dalam medium di laboratorium, menyebabkan infeksi dan intoksikasi. Gejala yang ditimbulkan muncul setelah 12 jam terinfeksi. Penyakit akan timbul jika menelan *C. perfringens* dalam jumlah besar, mikroba ini menerang usus dan membentuk spora dalam usus, kemudian membebaskan spora dan toksin dalam usus. Sumber *C. perfringens* misalnya pada memasak daging dalam volume besar dan mengkonsumsinya keesokan harinya. Sel vegetative *C. perfringens* dapat mati namun sporanya tetap aktif dan pada suhu hangat spora germinasi dan tumbuh. Waktu generasinya 9 menit.

2.3. Infeksi oleh *Listeria*

Listeria monocytogenes menyerang sel somatic dan dapat tahan terhadap pasturisasi, termasuk golongan psikrotrof yang dapat tumbuh dibawah suhu 10°C. Fermentasi sosis data mematikan *L. monocytogenes*.

3. Emerging foodborne pathogen.

Definisi: mikroba yang menyebabkan penyakit yang baru saja terjadi atau telah diketahui dalam suatu populasi atau yang dikenal dengan baik tetapi penyakit tersebut terjadi peningkatan kejadian yang cepat atau peningkatan kejadian dalam rentang geografis. 60% dari patogen manusia adalah zoonosis, 75% dari zoonosis yang muncul. Penyakit yang baru muncul. Perluasan media penularan dimulai dengan peningkatan insiden atau kisaran geografis secara cepat. Sudah menyebar sebelumnya, namun baru dapat diidentifikasi dengan pengetahuan atau metode baru untuk mengidentifikasi dan menganalisis penyakit tersebut. Penyebab emerging food borne diseases adalah perubahan lingkungan (teknologi, iklim), produksi dan globalisasi pasokan pangan, perkembangan ekonomi, perjalanan dan perdagangan Internasional, perubahan karakter populasi, perubahan atau gangguan kesehatan masyarakat, perubahan gaya hidup, dan perubahan karakter mikroba (adaptasi,

mutasi). bakteri yang dapat menyebabkan emerging food borne diseases meliputi *Salmonella* (multidrug resistant strain), *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* MRSA, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aerobacter spp.*, *Mycobacterium paratuberculosis*. Emerging food borne virus meliputi Hepatitis A dan E, Norovirus, dan avian influenza, AI. Emerging food borne parasite meliputi *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis*, *Anisakis spp.*

3. RINGKASAN

Intoksikasi yaitu keracunan dapat terjadi karena tertelannya suatu toksin. Foodborne diseases atau penyakit bawaan makanan yaitu penyakit yang disebabkan kontaminasi bahan pangan oleh mikroba pathogen. Food borne diseases dapat dikelompokkan menjadi keracunan makanan (food poisoning) dan infeksi makanan (Food infection). Food borne intoksikasi yaitu menelan makanan yang mengandung senyawa racun baik senyawa kimia maupun biologi, dan dapat juga tidak ditemukan atau ditemukan mikroba di dalam makanan tersebut dalam waktu cepat. Food borne infeksi yaitu menelan makanan yang mengandung mikroba pathogen dan menimbulkan sakit dalam waktu yang lambat. Mikroba yang terdapat dalam makanan dan tertelan paling tidak berjumlah 10^6 sel/gram.

Mikroba penyebab intoksikasi adalah *clostridium botulinum* yang menghasilkan racun botulinum, *Staphylococcus aureus* menghasilkan racun staphylococcal enterotoksin, *Pseudomonascocovenenans* menghasilkan racun bongkrek, dan *Aspergillus flavus* menghasilkan aflatoksin. Mikroba penyebab food infeksi adalah *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Listeria*, dan *E. coli*.

Emerging foodborne pathogen adalah mikroba yang menyebabkan penyakit yang baru sajaterjadiatau telah diketahui dalam suatu populasi atauyang dikenal dengan baik tetapi penyakit tersebut terjadi peningkatan kejadian yang cepat atau peningkatn kejadian dalam rentang geografis. Mikroba yang termasuk ke dalam penyebab emerging foodborne pathogen adalah *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* MRSA, *Vibrio vulnificus*,

Yersinia enterocolitica, *Aerobacter* spp., *Mycobacterium paratuberculosis*.

LATIHAN

1. Jelaskan istilah foodborne intoksikasi dan foodborne infeksi?
2. Sebutkan bakteri penyebab penyakit foodborne intoksikasi dan foodborne infeksi?
3. Apakah botulin dan staphylococcal dan jelaskan perbedaannya?

BACAAN YANG DIANJURKAN

James Jay, et al., 2005. Modern Food Microbiology.

Yuwono, 2012. Mikrobiologi Penyakit Infeksi.

Norman G. Marriott dan Robert B. Gravani. 2006. Principle of Food Sanitation

DAFTAR PUSTAKA

- Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM, Liang L, Gunn SK, Darlington G, Ellis KJ. 2005. A combination of prebiotic short-and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr* 82(2):471-476.
- Araujo E A, Carvalho AF, Eleana SL, Furtado MM, Moraes CA. 2009. Production of cottage-like symbiotic cheese and study of probiotic cells survival when exposed to different stress levels. *Pesqui.Agropecu. Tropical* 39(2): 111-118.
- Both E, Gyenge L, Bodor Z, Gyorgy E, Lanyi S, Abraham B. 2012. Intensification of probiotic microorganisms viability by microencapsulation using ultrasonic atomizer. *UPB Buletin Stiintific Series B: Chem Mater Sc* 74(1):27-32, ISSN 1454-2331.
- Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. 2011. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr* 50(1):1-17
- Czerucka D, T. Piche, and P. Rampal. 2007. Review article: yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol Ther* 26, 767-778.
- Demirel G, Celik IH, Erdeve O, Saygan S, Dilmen U, Canpolat FE. 2013. Prophylactic *Saccharomyces boulardii* versus nystatin for the prevention of fungal colonization and invasive fungal infection in premature infants. *Eur J Pediatr*. [Epub ahead of print]

- Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, Amiot J, Boutin Y, Roy D. 2008. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr Issues Mol Biol* 10(1/2):37.
- Dixit, K. and Gandhi, D.N. 2006. Biotherapeutic properties of probiotic yeast *Saccharomyces* species in fermented dairy foods. UK: Available: <http://www.dairyscience.info/kalpna>.
- Edwards-Ingram L, Gitsham P, Burton P. 2007. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 73: 2458–67.
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA. 2014. Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: the prospects and challenges. *Int J Mol Sci* 15(3):4158–4188. doi:10.3390/ijms15034158
- FAO/WHO. 2002. (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food (London, England, Ontario, Canada. 30 April-1May).
- Fleet GH. 1991. Cell walls. In *The Yeasts*, 2nd edn, vol 4, Rose AH, Harrison JS (eds). Academic Press: New York ;199–277.
- Fuller R. Probiotics in man and animals. 1989. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5):365–78. Epub 1989/05/01.
- Daniel Y.C. Fung dan Susan J. Goetsch, 1991. Syllabus for Food Microbiology. Department of Animal Science and Industry, Kansas State University, USA
- Gilliland, S.E., Stanley, T.E. and Bush, L.J. 1984. Importance of bile tolerance of *Lact. acidophilus* used as a dietary adjunct. *J Dairy Sci* 67, 3045–3051.
- Heitman J. *Saccharomyces cerevisiae*: an emerging and model pathogenic fungus. 2006. ASM Press.
- Janeway CA, Medzhitov R. 2002. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 20: 197–216.
- Jay J, Loessner MJ, Golgen DA. 2005. *Modern Food Microbiology*, seventh edition, ISBN 0-387-23180-3, Springer Science + Business Media, LLC, USA.

- Kavita. R. Pandey, & Suresh. R. Naik, & Babu. V. Vakil. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review .J Food Sci Technol., 52(12):7577-7587. DOI 10.1007/s13197-015-1921-1
- Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H. 2005. *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*, 21: 583-90.
- Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B.C. 2001. Growth and survival of a yeast in dairy products. *Food Res Int* 34,791-796.
- MacKenzie DA, Defernez M, Dunn WB, Brown M, Fuller LJ, de Herrera SRMS, et al. Relatedness of medically important strains of *Saccharomyces cerevisiae* as revealed by phylogenetics and metabolomics. *Yeast*. 2008;25(7):501-12.
- Marcin Łukaszewicz, 2012. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* -Probiotic Yeast. <http://dx.doi.org/10.5772/50105>
- Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria: a review. *Int J Food Microbiol* 2005; 105: 281-95
- Martins, F.S., Nardi, R.M.D., Arantes, R.M.E., Rosa, C.A., Erkkilä, S. and Petaja, E. 2005. Screening of commercial meat probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. *J Gen Appl Microbiol* 51, 83-92.
- Murzyn A, Krasowska A, Stefanowicz P, Dziadkowiec D, Łukaszewicz M. Capric acid secreted by *S. boulardii* inhibits *C. albicans* filamentous growth, adhesion and biofilm formation. *PLoS one*. 2010;5(8):e12050. Epub 2010/08/14.
- Munarso et al., 2005. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Niittynen L, Kajander K, Korpela R. 2007. Galacto-oligosaccharides and bowel function. *Scand J Food Nutr* 51(2):62-70. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(12):7577-7587
- Norman G. Marriott dan Robert B. Gravani. 2006. *Principle of Food Sanitation*
- Parvez, S, K.A. Malik, , S. Ah Kang, and H.-Y. Kim. 2010. REVIEW ARTICLE. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* ISSN

- 1364-5072 Journal compilation ^a 2006 The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology, 1171-1185.
- Pennacchia, C., G. Blaiotta, O. Pepe and F. Villani. 2008. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics, Journal of Applied Microbiology 105:1919-1928.
- Peña AS. 2007. Intestinal flora, probiotics, prebiotics, synbiotics and novel foods. Rev Esp Enferm Dig 99 (11):653
- Purwiyatno, H. 2013. Freezing Drying Technology: For Better Quality & Flavor of Dried Products. Food Review Indonesia. Vol 8(2): 52-56).
- Saulnier D, Spinler JK, Gibson GR, Versalovic J. 2009. Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. Curr Opin Biotechnol 20(2):135-141. doi:10.1016/j.copbio.2009.01.002
- Schley PD, and Field CJ. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. Br J Nutr 87(S2):S221-S230
- Ukuku et al., 2008.
- Zhang MM, Cheng JQ, Lu YR, Yi ZH, Yang P, Wu XT. 2010. Use of pre-, pro-and synbiotics in patients with acute pancreatitis: a metaanalysis. World J Gastroenterol: WJG 16(31):3970. doi:10.3748/wjg.v16.i31.3970.

INDEKS

A

Acetobacter, 6, 12, 16, 63
Acinetobacter, 6, 16, 13, 4, 62, 75, 76,
78, 39, 62
Aerobic, 14, 18
Aflatoksin, 5, 18
Agensia, 18, 3, 27, 31
Agensia anti fungi, 31
Agensia antimikrob, 18
Agensia antimikroba, 18
Agensia flavoring, 27
Alcaligenes, 6, 13, 14, 17, 75, 81, 82, 39
Alternaria, 2, 15, 13, 67, 71, 72, 73, 80,
84
Anaerobic, 14, 18
Antibiotic, 30, 33, 12
Antioksidan, 25, 26
Asam, 4, 6, 7, 1, 9, 23, 41, 45, 57, 81, 8,
14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 30, 36,
53, 62
Asam bensoat, 1
Asam propionate, 14, 21
Asam sitrat, 22
Asam sorbat, 1, 14, 22
Aspergillus, 2, 15, 13, 63, 72, 84, 6, 44,
3, 5, 8, 18
Aureobasidium, 3, 15
 A_w (water activity) atau aktivitas air,
11

B

Bacillus, 10, 13, 14, 17, 7, 13, 11, 17,
29, 46, 54, 62, 63, 71, 72, 75, 78, 81,
82, 27, 29, 30, 44, 51, 52, 53, 54, 70
Bakteri asam laktat, 12, 22, 35
Bakteri asidurik, 13
Bakteriofage, 5, 36
Barier kesehatan usus, 37
Bifidobacterium, 12, 17, 21, 31, 33,
45, 46, 54
Biocontrol, 32, 18
Botulin, 4, 18
Brucella, 6

C

Campylobacter, 5, 15, 11, 8
Candida, 4, 15, 13, 40, 84, 39
Case hardening, 7, 18
Clostridium, 11, 13, 14, 17, 14, 15, 20,
11, 30, 37, 38, 45, 62, 65, 71, 72, 75,
79, 81, 12, 13, 35, 44, 51, 52, 4, 7, 8,
18
Corynebacterium, 12, 17, 63, 82

D

Detergent, 37
D-value, 52, 70, 18

E

Edwardsiella, 7, 16
Emerging foodborne pathogen, 7, 8, 19
Enterobacter, 7, 13, 14, 74, 83
Enterococcus, 9, 13, 22, 29, 62, 81, 83, 35
Erwinia, 7, 16, 70, 71, 72
Escherichia, 7, 14, 15, 16, 17, 15, 29, 79, 83, 5
Ethylene, 14, 32

F

Faktor Pengencern, 4
Food borne infeksi, 3, 6, 8, 19
Fosfat, 29
Freezing, 12, 42, 49, 70, 72, 13
Freezy drying, 10, 19

G

Garam, 36, 23, 29, 54, 68
Geotricum, 2, 15, 84
Gluconobacter, 6
GRAS, 3, 13, 14, 26, 18, 20, 22
Gula, 12, 9, 23, 24, 68

H

Half life isotop, 59
HTST, 51, 20
Hurdle, 21, 1, 6, 16, 19, 66, 21

I

Indikator, 62, 64
Inhibitor, 80
Intermediate-moisture foods/IMF, 20
Intoksikasi, 3, 8

K

Kemasan, 37, 11, 65
Kerusakan, 1, 58, 59, 60, 62, 63, 66, 67, 69, 71, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 83, 85, 86, 87, 88, 62
Kerusakan aktif, 66, 85
Kerusakan pasif, 66, 85
Klebsiella, 7, 14, 30, 83
Kluuyveromyces., 4, 15
Kompetisi, 4, 22, 24, 50
Kristal es, 42, 50

L

Lactic antagonism, 33, 34, 21
Lactobacillus, 5, 11, 12, 13, 14, 17, 20, 21, 15, 16, 22, 25, 29, 30, 31, 33, 35, 37, 45, 46, 48, 52, 54, 55, 61, 62, 63, 65, 75, 78, 81, 83, 34, 35, 51
Lactococcus, 5, 9, 12, 13, 14, 22, 81, 83, 34
Lactococcus., 9
Leuconostoc, 5, 10, 13, 14, 23, 25, 53, 61, 62, 63, 75, 83, 34
Lipolitik, 75
Listeria, 11, 13, 15, 17, 13, 10, 11, 14, 17, 66, 69, 30, 7, 8

M

Mekanisme, 5, 13, 24, 32, 37, 49, 71, 4, 11, 13, 17, 19, 21, 22, 23, 29, 33, 35, 41, 43, 44, 46, 47, 53, 68, 69
Metabolisme nutrisi, 20
Micrococcus, 8, 13, 17, 20, 61, 63, 73, 75, 76, 78, 81, 82, 51
Microwave, 63, 64, 71, 21
Mikroflora kompetitif, 3, 22
Mikroorganisme dominan, 59
Modified Atmosphere, 10, 67, 21
Morexella, 6
MPN, 10, 17
Mucor, 2, 15, 13, 63, 76, 84, 39

N

Nutrisi, 4, 9, 16

P

Pasturisasi, 51
Pathogen, 15, 7
Pediococcus, 5, 10, 12, 13, 62, 83
Pembekuan, 40, 42, 50, 51
Pengaruh suhu, 8, 56
Pengaruh waktu, 6
Pengendalian, 70, 77, 83, 84, 3, 10, 13, 23, 25, 32, 36, 38, 40, 44, 51, 57, 65, 67, 68
Pengeringan, 70, 5, 6, 44, 47
Penicillium, 3, 15, 63, 71, 72, 76, 84, 44
Pertumbuhan, 3, 5, 12, 13, 18, 2, 4, 5, 6, 12, 22, 15, 48, 50, 65, 11
pH, 2, 12, 13, 16, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 21, 3, 5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 9, 33, 36, 37, 39, 42, 53, 54, 58, 61, 62, 67, 69, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 85, 87, 88, 9, 12, 13, 15, 16, 19, 21, 22, 23, 24, 30, 33, 34, 43, 44, 50, 53, 54, 67, 21
Pichia, 3, 15, 16, 84
Potensi oksidasi-reduksi (*Eh*), 14
prebiotik, 20, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 41, 48, 53, 23
Preferensi dalam utilisasi, 20
Probiotik, 21, 25, 28, 29, 33, 35, 40, 41, 45, 46, 47, 49, 53, 22
Probiotik,, 21
Propionibacterium, 12, 13, 14, 17
Proteus, 8, 79, 80
Pseudomonas, 5, 6, 13, 14, 16, 13, 4, 21, 30, 40, 61, 62, 63, 71, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 82, 13, 39, 44, 51
Psikrotrofik, 61, 85

Q

Q₁₀, 39

R

Radiasi, 57, 60, 63, 71, 22
Recoveri, 12
Resistensi, 36, 53, 3, 56, 67
Rhizopus, 3, 15, 13, 63, 71, 76, 80
Rhodotorula, 4, 15, 16, 84, 39

S

Saccharomyces, 3, 4, 15, 16, 17, 13, 20, 9, 16, 21, 25, 29, 30, 41, 42, 43, 46, 54, 57, 10, 11, 12, 13
Saccharomyces boulardii, 21, 29, 30, 42, 46, 10, 11, 12
Salmonella, 5, 8, 15, 16, 5, 9, 10, 13, 2, 3, 4, 11, 13, 17, 38, 40, 52, 66, 68, 30, 49, 6, 8
Senyawa anionic, 37
Serratia, 8, 13, 14, 75, 78, 79, 80
Shigella, 8, 13, 11, 40, 52, 68
Sinbiotik, 32, 33, 23
Smoking, 10, 23
Spices, 26, 28
Spoilage Detection Level (SDL), 60
Staphylococcal enterotoksin, 4, 23
Staphylococcus, 5, 9, 13, 14, 15, 17, 13, 5, 11, 40, 61, 73, 82, 34, 3, 4, 8
Streptococcus, 5, 9, 12, 13, 22, 25, 45, 46, 54, 63, 75, 82, 83, 51
Struktur biologik, 1, 24, 22
Sub Lethal injuri, 11
Surface tension, 37

T

Tahap pengolahan, 18
Thermofilik, 10, 62, 85
Torulopsis, 4, 15, 16, 39

U

UHT, 82, 84, 51, 23
Uji Salmonella, 13, 17
Ultra violet, 63

V

VHT, 51, 23
viable but non culturable (VBNC),
12, 17
Viable cell count, 3, 17
Virus, 15

X

Xanthomonas, 6, 14

Y

Yersinia, 8, 13, 15, 10, 11, 40, 8, 9

Z

Zat pewarna, 38
Zygosacchromyces, 4, 15

SENARAI

A.

Aerobic

kondisi dimana diperlukan adanya oksigen.

Anaerobic

kondisi dimana tidak ada oksigen.

Autotroph

mikroorganismenya yang mampu memperoleh sumber karbon dari CO₂ atau karbonat.

Aflatoksin

racun yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus* yang bersifat karsinogenik, dengan batasan limit 20ppb dalam makanan.

B

BHA Butylated hydroxyanisole bahan antioksidan untuk makanan yang termasuk GRAS. Butylated hydroxytoluene (BHT).

Biocontrol

penggunaan satu atau lebih organisme untuk mengontrol atau menghambat pertumbuhan organisme lainnya. Browning (Reaksi Mailard non enzimatik).t-Butylated hydroxyquinone (TBHQ): bahan tambahan makanan yang termasuk dalam GRAS.

Botulin

racun yang dihasilkan oleh *Clostridium botulinum* tidak tahan terhadap panas dan rusak pada pemanasan mendidih selama 10 menit.

C

Case hardening:

kondisi yang terjadi karena evaporasi dipermukaan makanan lebih cepat dibanding difusi uap air di bagian dalam makanan.

D

Dilution factor :

tahapan pengenceran sampel untuk tujuan penghitungan jumlah mikroba.

D-value:

waktu yang diperlukan untuk menurunkan 1-unit log mikroorganisme.

E.

Efek halo:

Sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat pada awalnya dan akan menjadi hitam dengan bertambahnya waktu inkubasi.

Emerging foodborne pathogen:

mikroba yang menyebabkan penyakit yang baru saja terjadi atau telah diketahui dalam suatu populasi atau yang dikenal dengan baik tetapi penyakit tersebut terjadi peningkatan kejadian yang cepat atau peningkatan kejadian dalam rentang geografis.

F.

Fase pertumbuhan:

tahapan pertumbuhan sel mikroba yang terdiri dari tahap lag, logaritmik, stasioner, dan kematian.

Fase stationer:

fase pertumbuhan mikroba dimana jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati.

Factor intrinsic:

parameter faktor yang ada terdapat di dalam makanan itu sendiri atau dalam substrat itu sendiri yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme

Factor ekstrinsik:

yaitu beberapa faktor yang disebabkan oleh lingkungan tempat pertumbuhan mikroba.

Factor implisit:

faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba.

Fakultatif aerobic:

mikroba yang tumbuh pada kondisi aerobic namun juga bias tumbuh pada kondisi anaerobic.

Foodborne disease:

penyakit bawaan makanan

Foodborne pathogen:

bakteri penyebab keracunan yang dibawa oleh makanan.

Freezy drying:

proses pengeringan untuk mengawetkan bahan pangan atau non pangan yang mempunyai sifat mudah rapuh dan tidak tahan terhadap suhu panas.

Food borne intoksikasi:

menelan makanan yang mengandung senyawa racun baik senyawa kimia maupun biologi, dan dapat juga tidak ditemukan atau ditemukan mikroba di dalam makanan tersebut dalam waktu cepat.

Food borne infeksi:

menelan makanan yang mengandung mikroba pathogen dan menimbulkan sakit dalam waktu yang lambat.

G.**Generation time:**

waktu yang diperlukan oleh satu sel untuk menjadi dua sel, dua sel menjadi empat sel, empat sel menjadi delapan sel, dan seterusnya

GRAS: generally recognized as safe

H.**Heterotroph:**

mikroorganisme yang memerlukan senyawa organik sebagai sumber karbon bagi pertumbuhannya.

Homolaktik:

jalur glikolitik digunakan dalam fermentasi asam laktat dengan produk asam laktat.

Heterolaktik:

menggunakan jalur fosfoketolase daripada jalur glikolitik yang digunakan oleh bakteri homolaktik menghasilkan asam laktat, alcohol dan CO₂.

High temperature short time: HTST (72°C/12 detik)

Half-life:

paruh waktu adalah waktu yang diperlukan untuk mengurangi daya radioaktivitas separuhnya.

High hydrostatic pressure (HHP):

HPP menggunakan air sebagai mediumnya.

I.**Inkubasi:**

masa penumbuhan mikroba dalam suhu dan kondisi yang sesuai.

Inokulasi:

penanaman mikroba menggunakan alat jarum ose.

Immunomodulasi:

berpengaruh pada humoral serta cell mediated immunity.

Intermediate-moisture foods/IMF):

produk dengan karakteristik kandungan airnya 15-50% dan aw 0,60-0,85.

J.**Jual pada (sell by date):**

memasukkan umur simpan produk ditambah periode konsumsi yang masuk akal yang terdiri dari setidaknya sepertiga dari perkiraan total umur simpan produk makanan yang mudah rusak.

K.**Koloni:**

terdiri dari sel bias satu sel atau lebih dari satu sel.

Kultur mikroba:

sel mikroba yang dapat ditumbuhkan dalam media dan kondisi yang sesuai.

Kultur starter:

mikroba yang menstimulasi terjadinya proses fermentasi, bias dalam kultur tunggal atau lebih dari satu/campuran.

Konsep Hurdle:

faktor penghambat (rintangan), sementara secara individual tidak dapat menghambat mikroorganisme, dan akan efektif dalam kombinasi. Misalnya Kombinasi kelembaban, garam total, dan pH dapat memberikan penyimpanan yang aman pada produk keju olahan pada suhu kamar untuk waktu yang lama meskipun faktor secara individu, tidak akan memberikan hasil yang sama.

Kontaminasi:

perpindahan mikroorganisme dari satu tempat ke tempat lain secara tidak terkontrol dan tidak dikehendaki.

L.**Lag fase:**

fase awal atau fase adaptasi pertumbuhan mikroba

Log fase:

fase pertumbuhan mikroba dimana sel mulai membelah binary atau pembelahan ganda.

Lactic antagonism:

Fenomena bakteri asam laktat menghambat dan membunuh bakteri yang berkaitan dekat, bakteri penyebab keracunan, bakteri pembusuk pada saat ditumbuhkan atau berada dalam kehidupan bersama.

M**Modified Atmosphere:**

Mengubah/memodifikasi komposisi udara di dalam kemasan.

Microwave:

merupakan alat pemanas makanan yang menggunakan gelombang elektromagnetik.

N.

Nutraceutical:

makanan atau bagian dari makanan yang memberikan manfaat medis atau kesehatan, termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit.

O.

Obligat aerobic:

harus ada oksigen.

P.

Proliferasi:

pembelahan sel mikroba menjadi 2 dan dua menjadi empat, empat menjadi delapan, dan seterusnya.

Pour plate:

metode tuang

Potensi redoks:

Potensi reduksi-oksidasi atau redoks suatu zat didefinisikan dalam istilah rasio total kekuatan pengoksidasi (penerimaan elektron) terhadap total kekuatan reduksi (sumbangan elektron) dari suatu zat.

Protein sparing effect:

Pada daging yang disuplementasi dengan sukrosa maka bakteri asam laktat akan merombak karbohidrat menghasilkan asam, dan asam ini dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang akan merombak senyawa protein.

Probiotik:

mikroorganisme hidup yang memberikan suatu efek menguntungkan pada kesehatan inangnya ketika diberikan dalam jumlah yang memadai.

Prebiotic:

bahan makanan non-dicerna, yang fungsinya berperan sebagai makanan untuk mikroorganisme probiotik, dan dengan demikian meningkatkan kelangsungan hidup probiotik dan meningkatkan daya implantasi dalam saluran usus inang

Perishable:

reaksi dalam pangan yang terjadi lebih cepat sehingga mengakibatkan kerusakan pangan.

Propyl gallate (PG):

bahan tambahan makanan yang termasuk GRAS.

Q**R.****Rekoveri:**

penyembuhan kembali sel bakteri yang mengalami injury.

Radiasi ionisasi: α -ray, β -ray, γ -ray, x-ray: langsung berpenetrasi melalui udara namun energy ini tidak mempunyai efek apapun kecuali telah terabsorpsi.

Radiasi non ionisasi:

ultraviolet, microwave.

Radiasi sinar ultraviolet:

radiasi berada pada kisaran gelombang cahaya 2000 Å hingga 2800Å.

S**Standard plate count:**

perhitungan mikroba menggunakan media Plate Count agar.

Spread plate:

metode tebar

Sublethal injuri:

luka sel bakteri karena terkena proses pengolahan

Spore forming bakteri:

bakteri yang mampu membentuk spora di dalam sel nya.

Struktur biologi:

misalnya cangkang telur yang melindungi isi telur.

Sinbiotik:

prebiotik dikombinasikan dengan probiotik sinbiotik berpengaruh menguntungkan inangnya dengan meningkatkan daya tahan hidup dan penanaman suplemen makanan mikroba hidup di dalam saluran gastro intestinal.

Smoking :

metode pengasapan.

Staphylococcal enterotoksin:

racun yang diproduksi oleh racun yang, tahan panas pada suhu 100°C.

T**Thawing:**

melelehkan produk pangan yang membeku.

U**Ultra-high temperature (UHT):**

pasturisasi susu dengan pemanasan pada suhu 130°C/1 detik)

V**Viabilitas:**

kemampuan sel mikroba untuk hidup pada kondisi yang sesuai.

Vat pasturisasi (LTLT: Low temperature long time:
pemanasan pada suhu 62,8°C/30min.

Very high temperature (VHT):
pasturisasi susu dengan pemanasan pada suhu 72°C selama 2 detik.