II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tempoyak

Tempoyak populer di Indonesia, terutama Malaysia dan Sumatera Selatan.

Tempoyak dapat dikonsumsi dengan dimasak bersama ikan ataupun sayuran, tidak seperti buah durian yang biasanya dikonsumsi dalam keadaan segar.

Tempoyak yang merupakan hasil dari fermentasi buah durian (*Durio zibethinus*) memiliki aroma buah durian yang kuat dan rasa asam (Owens dan Nuraida, 2014). Rasa asam pada tempoyak disebabkan oleh sejumlah asam organik yang terbentuk yaitu berupa asam malat (145,9 mg/mL), asam laktat (34,1 mg/mL) dan sedikit asam asetat (14,2 mg/mL) (Yuliani, 2005).

Daging durian dan garam merupakan bahan utama yang diperlukan untuk membuat tempoyak. Garam ditambahkan sekitar 2% sampai 5% ke dalam daging durian. Banyaknya garam yang ditambahkan dapat menentukan rasa asam hingga asin pada tempoyak yang akan dibuat. Tempoyak menghasilkan rasa dan aroma yang merupakan gabungan berbagai senyawa organik baik berasal dari buah durian maupun hasil metabolisme bakteri asam laktat (Owens dan Nuraida, 2014). Buah durian yang dijadikan tempoyak memiliki kandungan gizi yang terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, vitamin, dan mineral (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan gizi dalam 100 gram buah durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Kandungan gizi	Kadar
Air (g)	65
Protein (g)	2,5
Lemak (g)	3
Karbohidrat (g)	28
Fospor (mg)	44
Kalium (mg)	7,4
Besi (mg)	1,3
Vitamin A (SI)	175
Vitamin C (mg)	53

(Setiadi, 2006).

B. Bakteri Asam Laktat (BAL)

1. Karakteristik BAL

Bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri antara lain tergolong bakteri gram positif dan berbentuk kokus atau batang. BAL memiliki suhu optimum 40°C. Selain itu bakteri ini tidak membentuk spora, pada umumnya bersifat tidak motil, dan bersifat anaerob. BAL bersifat katalase negatif, oksidase positif, dan produk utama dari fermentasi bakteri asam laktat adalah asam laktat (Konig dan Frohlich, 2009).

Contoh bakteri yang termasuk kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah Oenococcus, Aerococcus, Enterococcus, Carnobacterium, Lactobacillus, Leuconostoc, Lactococcus, Pediococcus, Vagococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, dan Weissella. BAL dikelompokkan

menjadi bakteri yang bersifat homofermentatif dan yang bersifat heterofermentatif berdasarkan atas tipe fermentasinya. Bakteri yang bersifat homofermentatif adalah bakteri yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil metabolisme karbohidratnya. Bakteri yang bersifat heterofermentatif menghasilkan lebih dari satu jenis asam dan senyawa yaitu asam laktat, sedikit asam asetat, etanol, dan karbondioksida (Ghanbari dan Jami, *dalam* Kongo 2013).

2. Manfaat BAL pada Bahan Pangan

BAL dapat digunakan untuk tujuan pengawetan pada bahan pangan karena aman untuk dikonsumsi. BAL dapat memproduksi zat antibakteri seperti seperti asam organik (asam laktat dan asam asetat), hidrogen peroksida, dan bakteriosin. BAL tertentu juga dapat tumbuh pada pH rendah, suhu dingin, dan konsentrasi garam yang tinggi. BAL toleran terhadap pengemasan dan terhadap bahan tambahan tertentu seperti asam laktat, asam asetat, dan etanol. Karena sifat tersebut, bakteri asam laktat dapat digunakan sebagai pengawet makanan sehingga dapat membatasi pertumbuhan organisme pembusuk dan patogen (Ghanbari dan Jami, dalam Kongo 2013).

4. Kemampuan BAL sebagai Pengawet Hayati

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat antimikroba terutama bakteriosin, asam-asam organik, dan senyawa lainnya seperti hidrogen peroksida, karbondioksida, dan diasetil sehingga bakteri ini memiliki kemampuan sebagai bahan pengawet hayati yang dapat membunuh bakteri patogen dan pembusuk. Bakteriosin terdiri dari senyawa protein. Melalui mekanisme biosintesis protein ribosom, bakteriosin disintesis. Senyawa ini bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelas utama, yaitu kelas I adalah lanthionine yang mengandung bakteriosin atau lantibiotics, dan kelas II adalah antimikroba peptida linear (Ghanbari dan Jami, *dalam* Kongo 2013).

Asam organik yang dihasilkan bakteri asam laktat dapat menurunkan pH sehingga bakteri pembusuk dan patogen tidak dapat tumbuh. Hidrogen peroksida dapat mengoksidasi protein sel bakteri sehingga strukturnya rusak. Karbondioksida menghambat dekarboksilasi enzimatik dan menyebabkan membran sel kehilangan permeabelitasnya. Diasetil yang dihasilkan dari fermentasi citrat juga memiliki sifat antimikroba. Diasetil lebih aktif terhadap bakteri gram negatif, jamur, dan ragi dibandingakan terhadap bakteri gram positif. Diasetil bereaksi dengan arginin pada protein bakteri gram negatif sehingga terjadi gangguan dalam pemanfaatan asam amino (Ghanbari dan Jami, *dalam* Kongo 2013).

C. Pengawetan Ikan

Salah satu bagian penting dari mata rantai industri perikanan adalah proses pengolahan dan pengawetan. Tujuan pengolahan dan pengawetan adalah untuk mempertahankan kesegaran dan mutu ikan selama mungkin dengan menghambat atau menghentikan kemunduran mutu ikan (pembusukan) (Arias *dalam* Fernandes, 2009).

Ikan segar cepat mengalami kebusukan dalam waktu 12 jam (van Berkel dkk, 2004). Pembusukan ikan dimulai setelah ikan mati. Pembusukan terjadi karena reaksi yang disebabkan oleh kegiatan enzim pada ikan, autoksidasi, dan kegiatan metabolik mikroorganisme dalam ikan. Pembusukan dapat dilihat dari keadaan ikan yang sudah tidak segar secara visual dan dari baunya. Ikan yang sudah busuk memiliki ciri-ciri, antara lain mata ikan cekung dan masuk ke dalam rongga mata, dan mata ikan buram. Insang berwarna coklat, warna kulit ikan memudar dan berlendir serta daging ikan berwarna kusam dan lembek (Arias *dalam* Fernandes, 2009).

Pengawetan makanan dilakukan untuk menghambat kerusakan kimia dan pertumbuhan mikroba, menghindari kontaminasi sebelum dan sesudah pengolahan. Terdapat beberapa jenis teknik pengawetan makanan. Teknik penghambatan dilakukan dengan pengendalian lingkungan seperti dengan pendinginan yang dilakukan dengan mengontrol suhu. Selain teknik penghambatan, teknik lainya yaitu dengan penggunaan bahan kimia. Bahan pengawet seperti asam organik dan ester, termasuk sulfit, nitrit, asam asetat,

asam sitrat, asam laktat, asam sorbat, asam benzoat, natrium diasetat, natrium benzoat, methylparaben, ethylparaben, propylparaben, dan natrium propionat diizinkan secara hukum dalam makanan (Rahman, 2012).

D. Metode Pengujian Antibakteri

Antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri dapat diketahui dengan uji antimikroba. Uji sensitivitas antimikroba merupakan uji untuk mengukur kemampuan agen antimikroba menghambat pertumbuhan bakteri *in vitro*. Uji ini dapat diketahui dengan metode dilusi dan metode difusi (Vandepitte dkk, 2003).

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui perkiraan kuantitatif aktivitas antimikroba. Antimikroba dengan kadar tertentu dimasukkan ke dalam media cair atau media agar yang kemudian diinokulasi dengan organisme uji. Konsentrasi terendah antimikroba yang mampu mencegah pertumbuhan mikroba setelah inkubasi disebut sebagai konsentrasi hambat minimum (Vandepitte dkk, 2003).

Tes difusi cakram kertas dilakukan dengan terlebih dahulu meresapi kertas cakram dengan sejumlah tertentu antimikroba. Kertas cakram ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasikan dengan organisme uji dan kemudian diinkubasi. Setelah diinkubasi, akan terbentuk zona hambat disekeliling kertas cakram tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi luas zona hambat pada metode difusi cakram adalah kepadatan inokulum, waktu

aplikasi, suhu inkubasi, waktu inkubasi, kemampuan zat antibakteri, komposisi medium, ukuran cakram, kedalaman media agar, dan jarak antar cakram dalam satu cawan (Vandepitte dkk, 2003).