

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Daging**

Komponen penyusun dari karkas hewan yaitu kulit, otot, lemak, dan tulang. Otot merupakan komponen penting yang sering disebut sebagai daging, namun definisi secara luas daging merupakan timbunan lemak dan tulang yang masih berikatan dengan otot yang dapat diolah dan dijual (Kauffman, 2001). Daging memiliki kandungan gizi yang sangat baik, yang terdiri dari 75% air, 19% protein, 3,5% substansi non protein yang larut, dan 2,5% lemak (Lawrie, 2003). Daging terdiri dari berbagai jenis jaringan seperti saraf, adiposa, dan jaringan ikat. Jaringan otot rangka pada umumnya antara 50% dan 70% dari berat karkas daging hewan (Hui, 2012). Pada otot terdapat sejumlah senyawa kimia, seperti asam lemak bebas, gliserol, trigliserida, fosfolipid, nitrogen nonprotein seperti DNA, RNA, amonia, kelompok amina, dan vitamin (Kauffman, 2012).

Warna pada daging dipengaruhi oleh jenis dan kuantitas pigmen dalam otot, jenis serat penyusun otot dan hubungan spasialnya, lemak intramuskular, dan dehidrasi permukaan. Faktor instrinsik yang dapat mempengaruhi warna daging hewan yaitu spesies, usia, jenis kelamin dan jenis otot. Faktor

ekstrinsik yaitu diet, sistem perumahan, kondisi lingkungan, stres yang terkait dengan transportasi sebelum disembelih, serta kondisi sebelum penyembelihan lainnya (Castigliego *et al.*, 2012).

## **B. Pengawet Daging**

Bahan pengawet adalah senyawa atau bahan yang mampu menghambat, menahan atau menghentikan, dan memberikan perlindungan bahan makanan dari proses pembusukan (Cahyadi, 2009) yang disebabkan oleh mikroorganisme. Bahan pengawet biasanya ditambahkan ke dalam makanan yang mudah rusak atau makanan yang mudah ditumbuhi bakteri atau jamur, seperti produk daging dan buah-buahan (Margono *et al.*, 2000).

Bahan pengawet terbagi menjadi dua jenis yaitu :

### 1. Zat pengawet organik

Zat kimia yang sering dipakai sebagai bahan pengawet ialah asam sorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat, dan epoksida (Winarno, 2004).

### 2. Zat pengawet anorganik

Zat pengawet anorganik yang sering digunakan adalah sulfit, hidrogen peroksida, nitrat, dan nitrit. Senyawa sulfit yang digunakan sebagai pengawet adalah asam sulfit yang tidak terdisosiasi dan menurunkan pH sampai di bawah 3. Garam nitrat dan nitrit umumnya digunakan pada proses *curing* atau pengawetan daging dengan menambahkan NaCl,

$\text{NaNO}_3$  atau  $\text{KNO}_3$ , gula, bumbu-bumbu dan zat aditif untuk memperoleh warna yang baik dan mencegah pertumbuhan mikroba pathogen seperti *Clostridium botulinum*. Nitrit dan nitrat merupakan zat pengawet yang banyak digunakan sebagai bahan pengawet tidak saja pada produk-produk daging, tetapi juga pada ikan dan keju (Cahyadi,2009).

Mekanisme pengawetan nitrit adalah dengan memecah nitrit menjadi NO (nitroso) yang kemudian bereaksi dengan pigmen daging (mioglobin) membentuk nitrosomioglobin sehingga terbentuk warna merah cerah (Soeparno, 2005). Nitrit kemudian akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk serta menghambat ketengikan dengan menghambat oksidasi lemak (Winarno, 2004).

Nitrit adalah komponen penting dalam pengawetan daging dan merupakan bahan tambahan pada makanan yang multifungsi. Nitrit merupakan zat antioksidan potensial. Nitrit berwarna putih sampai kuning pucat dan berbentuk kristal. Nitrit larut dalam air dan amonia cair namun sulit larut dalam alkohol dan pelarut lainnya. Pada suhu kamar, satu molekul air melarutkan satu molekul natrium nitrit atau tiga molekul kalium nitrit (Rahman, 2007).

Penggunaan natrium nitrit sebagai pengawet untuk mempertahankan warna daging dan ikan, ternyata menimbulkan efek yang membahayakan kesehatan. Hal ini di sebabkan nitrit dapat berikatan dengan amino dan amida yang

terdapat pada protein daging membentuk turunan nitrosoamin yang bersifat toksik (Cahyadi,2008).

Konsumsi natrium nitrit atau natrium nitrat berkepanjangan telah terbukti menyebabkan methemoglobinemia, terutama pada bayi. Methemoglobinemia menyebabkan produksi hemoglobin abnormal. Selain itu 30 mg natrium nitrit dapat menyebabkan urtikaria, gangguan usus, atau sakit kepala ( Rahman, 2007).

Selain nitrit, zat pengawet organik seperti asam organik dapat digunakan sebagai pengawet pada daging. BAL merupakan bakteri yang dapat menghasilkan asam laktat sebagai hasil metabolismenya, pada proses fermentasi. Dyson dan McShane (2009), melaporkan bahwa perubahan biokimia selama proses fermentasi menyebabkan lingkungan menjadi asam, sehingga banyak mikroba patogen dan pembusuk tidak dapat bertahan pada lingkungan tersebut.

Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL dibagi menjadi 4 kelas yaitu:

1. Bakteriosin kelas I yang disebut antibiotik contohnya nisin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* sangat aktif melawan sebagian besar bakteri gram positif dengan merusak membran sel (Benech *et al.*, 2002).
2. Bakteriosin kelas II berupa non antibiotik contohnya pediosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yang dapat mengambat *Listeria monocytogenes* (Loessner *et al.*, 2002).

3. Bakteriosin kelas III merupakan protein yang labil terhadap panas dengan berat molekul lebih dari 30 kDa.
4. Bakteriosin kelas IV merupakan glikoprotein atau lipoprotein (Oscariz dan Pisabarro, 2000).

Mekanisme zat antimikroba dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba yaitu:

1. Zat antimikroba berikatan pada reseptor sel, selanjutnya transpeptidase dan sintesis peptidoglikan terhambat. Terakhir pelepasan enzim autolisis pada dinding sel, sehingga dinding sel mikroba lisis atau terhambat pembentukan dinding sel.
2. Mengganggu fungsi selaput sitoplasma sehingga permeabilitas dinding sel berubah atau bahkan menjadi rusak, maka komponen penting, seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain - lain keluar dari sel dan sel berangsur-angsur mati.
3. Menyebabkan bakteri salah membaca kode pada mRNA oleh tRNA.
4. Menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menyebabkan reaksi akan terhenti karena tidak ada substrat yang direaksikan dan asam nukleat tidak dapat terbentuk ( Jawetz *et al.*, 2013).

### C. Bakteri Asam Laktat

BAL adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif, dan oksidase positif dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Sifat-sifat khusus BAL adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, serta mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Salminen et al., 2004). BAL merupakan bakteri yang memproduksi berbagai komponen bermassa molekul rendah seperti asam, alkohol, karbon dioksida, diasetil, hidrogen peroksida, reutrin, dan bakteriosin (Dikeman dan Davine, 2014).

BAL dapat ditemukan pada beberapa jenis makanan tradisional, seperti gatot, tiwul, growol, tempoyak, acar mentimun, dan asinan kubis seperti *L. plantarum*, *L. delbrueckii* dan *L. pentosus* (Rahayu, 2003) juga pada saluran pencernaan manusia dan hewan.

Menurut Josephsen dan Jespersen (2004), BAL dapat menghasilkan asam laktat dan senyawa antimikroba lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Hasil proses fermentasi oleh BAL berupa asam laktat dan sebagian kecil asam - asam lain seperti asam asetat, etanol, dan  $\text{CO}_2$  yang berperan menghambat aktivitas bakteri pembusuk dan patogen. Lingkungan asam yang disebabkan oleh aktivitas BAL cocok digunakan sebagai bahan preservatif dan rasa alami dari makanan (Dayson dan McShane, 2009).

Berikut merupakan beberapa jenis BAL:

1. *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus*

*cremoris*. Bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat (coccus) yang terdapat sebagai rantai dan semuanya mempunyai nilai ekonomis penting dalam fermentasi susu.

2. *Pediococcus cerevisiae*

Bakteri ini adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, berpasangan dua-dua atau empat-empat (tetrads), dan berperan penting dalam fermentasi daging dan sayuran.

3. *Leuconostoc mesenteroides* dan *Leuconostoc dextranicum*.

Bakteri gram positif ini berbentuk bulat yang tersusun berpasangan atau berupa rantai yang pendek. Bakteri ini berperan dalam fermentasi awal sayuran. Selain sayuran, bakteri ini juga ditemukan dalam sari buah, anggur, dan bahan pangan lainnya.

4. *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*.

Bakteri tersebut berbentuk batang, gram positif dan sering berbentuk pasangan dan rantai dari sel-selnya, dan lebih banyak terdapat pada sayuran (Salminen *et al.*, 2004).

#### D. Tempoyak

Tempoyak merupakan hasil fermentasi buah durian (*Durio zibethinus*) yang memiliki aroma durian yang kuat dengan rasa yang asam. Rasa durian yang kuat menyebabkan tempoyak terbatas hanya pada orang-orang yang menyukai durian. Tempoyak populer di Indonesia terutama di sumatra selatan dan juga di malaysia. Berbeda dengan buah durian, yang dikonsumsi segar, tempoyak biasanya digunakan dalam memasak tradisional ikan dan hidangan sayuran (Owens dan Nuraida, 2014).

Dalam pembuatan tempoyak di tambahkan garam 2% sampai 15% ke dalam daging durian tergantung tempoyak asam atau asin yang akan di buat.

Konsentrasi garam pada fermentasi tempoyak mempengaruhi konsentrasi BAL yang tumbuh pada tempoyak. Pada konsentrasi 1% dan 2% garam ditemukan BAL yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempoyak yang ditambahkan garam sebanyak 0% dan 3% (Owens dan Nuraida, 2014).

Rasa dan aroma yang dihasilkan oleh tempoyak merupakan gabungan berbagai senyawa organik baik senyawa yang berasal dari buah durian dan hasil metabolisme BAL seperti *L. coryneformis*, *L. plantarum*, dan *L. case* yang terbentuk selama fermentasi berlangsung (Wirawati, 2002). Rasa asam yang terdapat pada tempoyak diakibatkan oleh sejumlah asam organik yaitu asam malat (145,9 mg/mL), asam laktat (34,1 mg/mL) dan sedikit asam asetat (14,2 mg/mL) (Yuliana, 2005).



## E. Metode Pengukuran Daya Hambat

Daya hambat dapat diukur dengan dua metode yaitu metode tabung dilusi dan metode lempeng difusi agar. Metode tabung dilusi digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah suatu antibiotik yang akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini dikenal sebagai konsentrasi minimum daya hambat. Konsentrasi minimum daya hambat, ditentukan berdasarkan pertumbuhan bakteri pada seri konsentrasi antibiotik. Tingkat berkurangnya pertumbuhan bakteri berbanding terbalik dengan naiknya konsentrasi antibiotik sehingga konsentrasi antibiotik tertinggi dapat diamati dengan melihat pertumbuhan sel terendah (Pommerville, 2013).

Metode kedua yaitu uji minimum antibiotik. Prinsip kerja dari metode ini ialah antibiotik berdifusi dari cakram lapisan kertas atau plastik ke dalam medium agar yang berisi organisme uji. Metode ini dilakukan dengan cara merendam cakram ke dalam antibiotik dengan konsentrasi yang berbeda - beda. Cakram diletakan di atas permukaan medium yang telah diinokulasikan bakteri uji, antibiotik berdifusi ke dalam agar (Pommerville, 2013).

Antibiotik kemudian kontak dengan dinding sel bakteri menyebabkan dinding sel mikroba lisis atau terhambat pembentukan dinding sel. Selain itu merusak fungsi selaput sitoplasma sehingga permeabilitas dinding sel berubah atau bahkan menjadi rusak, bakteri salah membaca kode pada mRNA oleh tRN dan menghambat sintesis asam nukleat bakteri ( Jawetz *et al.*, 2013).