

LAPORAN AKHIR

HIBAH PENELITIAN PHK A2

PEMBUATAN STARTER KULTUR KERING *LACTOBACILLUS PLANTARUM* DAN *LACTOBACILLUS FERMENTUM* SERTA APLIKASINYA TERHADAP KUALITAS FISIK, KIMIA DAN MIKROBIOLOGI SOSIS FERMENTASI DAGING SAPI DAN DAGING DOMBA

PENELITI :

**Irma Isnafia Arief, SPt, MSi
Dr. Rarah R.A. Maheswari
Tuti Suryati, SPt, MSi
Ir. Komariah, MS
Bramada Winiar Putra, SPt
Ir. Sri Rahayu, MSi**



**PROGRAM HIBAH KOMPETISI A2
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2007**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian

: Pembuatan Starter Kultur Kering *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* serta Aplikasinya Terhadap Kualitas Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Sosis Fermentasi Daging Sapi dan Daging Domba

Nama Lengkap

Peneliti Utama : Irma Isnafia Arief, SPt, MSi

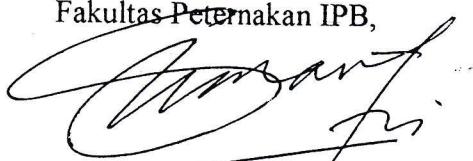
NIP : 132 243 330

Waktu Penelitian : 8 bulan

Total Biaya Penelitian: Rp 30.000.000 (tiga puluh juta rupiah)

Bogor, 20 Maret 2007

Mengetahui
Ketua Departemen
Ilmu Produksi Ternak
Fakultas Peternakan IPB,



Dr. Ir. Cece Sumantri, MscAgr
NIP. 131 624 187

Peneliti Utama,



Irma Isnafia Arief, SPt, MSi
NIP. 132 243 330

URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian

Pembuatan Starter Kultur Kering *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* serta Aplikasinya terhadap Kualitas Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Sosis Fermentasi Daging Sapi dan Daging Domba

2. Ketua Peneliti:

Nama Lengkap : Irma Isnafia Arief, SPt, MSi
Jabatan : Lektor
Bidang Keahlian : Ilmu dan Teknologi Pengolahan Daging

3. Tim Peneliti

No.	Nama Lengkap	Bidang Keahlian	Kedudukan dalam Penelitian *
1.	Irma Isnafia Arief, SPt, MSi	Ilmu dan Teknologi Pengolahan Daging	Ketua Peneliti
2.	Ir. Komariah, MS	Ilmu Daging	Anggota Peneliti
3.	Dr. Rarah R.A. Maheswari	Mikrobiologi Hasil Ternak	Anggota Peneliti
4.	Tuti Suryati, SPt, MSi	Teknologi Daging	Anggota Peneliti
5.	Bramada Winiar Putra, SPt	Teknologi Pengolahan Daging	Anggota peneliti
6.	Ir. Sri Rahayu, MSi	Ilmu Ternak	Anggota peneliti

*Ketua/Anggota

Mahasiswa yang terlibat

No.	Nama Lengkap	Program Studi	Kedudukan dalam Penelitian *
1.	Maripah Riwala	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
2	Ina Nurjanah	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti

3	Intan Meilissa	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
4	Dian Pratama	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
5	Eva Laela	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
6	Maya Amanda	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
7	Bhakti Wibowo	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti
8	Mulyadi	Teknologi hasil ternak angkatan 2003)	Anggota peneliti

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Daging merupakan bahan pangan yang mudah rusak, sehubungan dengan kan-dungan nutrisinya yang cukup untuk kebutuhan tumbuh bakteri, kapang dan khamir. Daging mengandung 75% air, 19% protein, 2,5% lemak, 1,2% karbohidrat, 2,3% bahan-bahan non-protein terlarut, mineral, vitamin dan lain-lain (Lawrie, 1998).

Beberapa perlakuan telah dikembangkan untuk memperpanjang umur simpan daging dan membuat daging lebih mudah dan praktis untuk dikonsumsi. Fermentasi adalah salah satu cara yang diusahakan untuk menjawab tantangan tersebut, contoh produk yang menggunakan metode ini adalah sosis fermentasi. Awalnya, fermentasi berlangsung secara spontan, kemudian industri daging menginginkan peningkatan kualitas, mengurangi keanekaragaman dan memperkuat karakteristik organoleptik produk yang tidak mungkin didapat pada fermentasi spontan.

Kultur starter sosis fermentasi telah dikembangkan sejak 40 tahun terakhir. Kultur yang sering digunakan untuk fermentasi daging dan tersedia secara komersial berasal dari golongan *Streptococcus* (Fardiaz, 1992), golongan *Micrococcus* (Varnam dan Sutherland, 1995), *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus sake*, *L. curvatus*, *Pediococcus lacidactici* dan kombinasi yang tepat dengan *P. pentosaceus* (ErdoTMrul *et al.*, 2002 dan Bromberg *et al.*, 2004). Di Indonesia, *Lactobacillus plantarum* banyak ditemukan pada sosis tradisional asal Bali (urutan) (Arief *et al.*, 2003).

Kultur starter untuk sosis dapat dibagi menjadi dua kategori. Generasi pertama mengandung bakteri asam laktat yang berasal dari materi tumbuhan. Generasi kedua berasal dari materi daging yang secara khusus diadaptasikan pada ekologi fermentasi daging (Hugas dan Monfort, 1997). Kultur starter bakteri asam laktat yang diisolasi dari selain daging masih kurang adaptif dan kurang optimal untuk fermentasi daging ditandai dengan berfluktuasinya viabilitasnya selama proses (Arief *et al.*, 2003 dan Hapsari *et al.*, 2003). Penelitian lebih lanjut yang dilakukan oleh Arief, *et al* (2005) menghasilkan beberapa bakteri asam laktat yang

diisolasi dan diidentifikasi dari daging segar. Spesies bakteri asam laktat yang ditemukan diantaranya adalah *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum*. Ditemukannya kedua jenis bakteri asam laktat ini mengindikasikan bahwa kedua bakteri tersebut dapat tumbuh dan beradaptasi dalam daging sehingga keduanya dapat dijadikan sebagai starter kultur sosis fermentasi. Namun, sampai sejauh mana efektifitas kedua bakteri tersebut sebagai starter kultur sosis fermentasi belum diketahui. Oleh karenanya sangat diperlukan penelitian untuk mengetahui efektifitas bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum* sebagai starter kultur pada pembuatan sosis fermentasi.

Penyediaan starter kultur memerlukan teknik pengembangan dan penyimpanan sehingga mudah didapatkan oleh industri pengolahan daging yang memproduksi sosis fermentasi. Selama ini starter kultur tersedia dalam bentuk cair yang mempunyai beberapa kelemahan antara lain mudah terkontaminasi oleh mikroba lain, tidak efektif dan efisien untuk diterapkan pada industri pengolahan daging (Hermanianto, 1998). Dalam perkembangannya, starter kultur sosis fermentasi sulit didapatkan karena belum terdapatnya starter kultur komersial di Indonesia. Oleh karenanya diperlukan penyediaan starter kultur sosis fermentasi yang mudah didapatkan dan mudah diaplikasikan untuk pembuatan sosis fermentasi. Salah satu teknologi yang dapat diterapkan adalah teknologi pengeringan beku (freeze drying). Menurut Arief (2000) metode *freeze drying* lebih efektif dibandingkan dengan metode pengeringan semprot (spray drying) dan oven vakum dalam pembuatan starter kultur. Dengan demikian usaha penyediaan starter kultur sosis fermentasi yang berasal dari bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum* dengan menggunakan teknologi *freeze drying* perlu dilakukan. Lebih lanjut, starter kering beku yang telah didapatkan perlu diaplikasikan ke pembuatan sosis fermentasi dan diteliti sampai sejauhmana efektifitas starter kering beku tersebut terhadap kualitas sosis fermentasi yang dihasilkan.

Tujuan :

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui efektifitas starter kering beku sosis fermentasi yang berasal dari bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* atau *Lactobacillus plantarum* yang telah diisolasi dari daging sapi. Efektifitas diukur melalui kemampuan daya tumbuhnya (viabilitas) selama penyimpanan (0, 15, 30 dan 45 hari).
2. Mengkaji perubahan kualitas fisik, kimia dan mikrobiologis sosis fermentasi daging sapi dan daging domba yang menggunakan starter kering beku *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum*.

Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu menjawab kebutuhan penyediaan starter kultur untuk sosis fermentasi. Starter kering beku yang dihasilkan dari kedua jenis bakteri asam laktat yang telah diisolasi dari daging sapi diharapkan mampu berfungsi sebagai starter yang dapat menghasilkan kualitas sosis fermentasi yang baik. Secara lebih terinci, penelitian ini akan memberikan informasi perkembangan teknologi pengolahan daging yang meliputi kualitas fisik, kimia dan mikrobiologi sosis fermentasi daging sapi dan daging domba dengan menggunakan starter kering beku bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus plantarum*. Lebih lanjut hasil penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan di industri pengolahan daging di Indonesia terutama yang mengembangkan sosis fermentasi seperti Salami dan Urutan (sosis fermentasi tradisional dari Bali).

Lebih khususnya, penelitian ini diharapkan akan memberikan bekal ketrampilan (hard skill) bagi lulusan program studi Teknologi Hasil Ternak (THT) terutama yang terlibat dalam penelitian ini mengenai teknologi pengolahan daging dan pengetahuan yang lebih mendalam tentang sosis fermentasi. Bekal ketrampilan ini sangat diperlukan oleh lulusan THT karena salah satu lapangan kerja bagi lulusan THT adalah industri pengolahan daging.

STUDI PENDAHULUAN DAN STUDI PUSTAKA

Daging dan Kualitasnya

Menurut Soeparno (1998), daging didefinisikan sebagai semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan-jaringan tersebut yang sesuai untuk di makan serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang memakannya. Organ-organ misalnya hati, ginjal, otak, paru-paru, jantung, limpa, pankreas, dan jaringan otot termasuk dalam definisi ini.

Daging dikatakan sebagai sumber protein hewani. Hal ini dapat dilihat dari komposisi zat nutrisi yang dikandungnya . Kandungan gizi daging sapi dan daging domba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Daging Sapi dan Daging Domba

Komposisi	daging sapi	daging domba
Kalori	207,0 kal	206 kal
Protein	18,8 g	17,1 g
Lemak	14,0 g	14,8 g
Kadar air	66,0 g	66,3 g
Kalsium	11,0 mg	10 mg
Fosfor	170,0 mg	191 mg
Besi	2,8 mg	2,6 mg

Sumber : Dirjen Gizi Depkes RI (1992)

Selain kandungan gizi, kualitas daging juga dilihat secara fisik yang meliputi daya mengikat air, warna, struktur, ketegaran atau tekstur dan keempukan (Soeparno, 1998). Daya mengikat air diartikan sebagai kemampuan daging untuk mempertahankan kandungan airnya selama mengalami perlakuan dari luar seperti pemotongan, pemanasan, penggilingan dan pengolahan. Warna yang dapat dilihat mata merupakan kombinasi beberapa faktor, yaitu panjang gelombang radiasi cahaya (kuning, hijau, biru dan merah), khroma atau intensitas cahaya dan refleksi cahaya. Penentu utama warna daging adalah pigmen daging yang terdiri dari dua macam protein hemoglobin dan myoglobin. Myoglobin menempati 80-90% dari seluruh pigmen dan besar molekulnya kurang lebih seperempat molekul hemoglobin.

Struktur, ketegaran dan tekstur daging sulit diukur secara objektif, biasanya konsumen mengukurnya secara visual, diraba dan dirasa (Aberle *et al.*, 2000). Keempukan daging merupakan faktor yang sangat penting dalam penentuan kualitas daging. Keempukan daging ditentukan oleh tiga komponen daging yaitu struktur miofibrilar dan satatus kontraktsinya, kandungan jaringan ikat dan daya mengikat air oleh protein daging (Soeparno, 1998).

Teknologi Fermentasi Daging

Teknologi proses fermentasi merupakan salah satu teknologi terkini dalam pengawetan daging. Selama ini produk fermentasi daging yang terkenal adalah sosis fermentasi yang di Cina disebut dengan Lup Cheong (Leistner, 1986), di Eropa dinamakan Salami, sedangkan di Indonesia terutama di daerah Bali terkenal dengan nama Urutan. Urutan merupakan produk sosis yang dibuat melalui proses fermentasi secara sederhana dan tradisional, dimana fermentasinya dilakukan secara spontan (Aryanta, 1996). Hal ini menyebabkan kondisi proses yang tidak terkontrol dan mikroba yang terlibat dalam proses fermentasi tersebut tergantung dari ketersediaan mikroba alamiah sehingga faktor kegagalan produk menjadi tinggi, mutunya tidak seragam dan umur simpannya rendah (Hermanianto, 1998).

Selain sosis fermentasi, teknologi fermentasi juga diterapkan dalam pembuatan daging fermentasi yang dikenal juga dengan sebutan dendeng fermentasi. Dendeng fermentasi dibuat dengan mengoleskan starter kultur tertentu ke permukaan irisan daging lalu dilakukan pengasapan. Dendeng daging sapi yang difermentasi oleh *L.plantarum* lebih baik karakteristiknya daripada daging terfermentasi alamiah (tidak dilakukan penambahan bakteri) karena nilai kekerasannya lebih rendah dan tidak ada kapang pada daging difermentasi oleh *L. plantarum*. Kadar air dan nilai pH kedua dendeng fermentasi relatif sama dan keduanya juga tidak mengandung bakteri Gram negatif, namun terdapat bakteri Gram positif pada dendeng terfermentasi alamiah (Damayanti dkk, 2001).

Produk-produk fermentasi yang diproses dengan metode dan kondisi yang tepat memiliki banyak keunggulan dalam hal keawetannya. Hal ini tidak lepas dari peranan mikroba yang ikut dalam proses fermentasi tersebut. Biasanya, untuk

produk fermentasi pangan digunakan bakteri asam laktat (Gilliland, 1986). Starter kultur yang banyak digunakan untuk produk fermentasi daging antara lain *Lactobacillus plantarum* (Wiriachare et al., 1990), golongan *Streptococcus* (Fardiaz, 1992) serta golongan *Micrococcus* (Varnam dan Sutherland, 1995). *Lactobacillus* digunakan sebagai kultur karena berfungsi untuk menurunkan pH sehingga produk terjaga keawetannya, sedangkan *Micrococcus* ditambahkan dalam proses fermentasi produk daging karena mempunyai sifat sebagai pereduksi nitrit sehingga produk daging terjaga keamanan pangannya dari residu nitrit. Keberhasilan proses fermentasi tersebut sangat tergantung dari adanya bakteri asam laktat yang tumbuh pada sosis (Aryanta, 1996; Varnam dan Sutherland, 1995).

Penggunaan kultur bakteri asam laktat sebagai starter fermentasi daging sangat menguntungkan karena bersifat antisinergis dengan mikroba patogen sehingga produk olahan menjadi lebih awet (Lindren dan Dobrogosz, 1990), selain itu pula golongan *Lactobacillus* bersifat sebagai probiotik yang sinergis dengan kondisi lingkungan saluran pencernaan manusia (Varnam dan Sutherland, 1995).

Sosis Fermentasi

Sosis berasal dari kata 'salsus' yang dalam bahasa Latin berarti garam dan secara harfiah diterjemahkan sebagai daging yang diawetkan dengan garam. Sosis fermentasi didefinisikan oleh Varnam dan Sutherland (1995) sebagai suatu produk yang terdiri dari campuran daging dan lemak, garam NaCl, bahan-bahan *curing*, dan bumbu yang dimasukkan ke dalam *casing*, difermentasikan dan dikeringkan. Produk ini sudah menjadi tradisi umum yang dikonsumsi masyarakat di benua Eropa.

Sosis fermentasi dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu sosis kering (dry sausages) dan sosis semi kering (semi dry sausages). Contoh sosis kering yaitu salami, sedangkan contoh sosis semi kering yaitu *Summer sausages*, *Teewurst* dan *Frische mettwurst*. Pada prinsipnya, pembuatan sosis fermentasi merupakan suatu rangkaian kegiatan yang kontinyu. Proses pembuatan sosis fermentasi terdiri dari beberapa tahap kegiatan yang dilakukan secara berurutan, yaitu pemotongan dan penggilingan daging, pencampuran bumbu-bumbu, starter kultur dan gula, NPS

(Nitrit Poeklen Saltz), pengisian ke dalam selongsong (casing) dan proses pengasapan serta fermentasi secara berselang-seling (Hermanianto, 1998).

Fermentasi pada sosis dengan menggunakan starter kultur lebih menguntungkan daripada fermentasi spontan (tidak menggunakan starter kultur) karena dapat dilakukan pengontrolan dan menghasilkan kualitas sosis fermentasi yang lebih baik (Arief, 2000). Sebagian besar jenis mikroba yang digunakan pada pembuatan sosis fermentasi adalah bakteri asam laktat.

Beberapa Studi Pendahuluan mengenai Sosis Fermentasi

Hermanianto (1998) melakukan penelitian pembuatan sosis fermentasi kering dengan mengaplikasikan beberapa jenis kultur tunggal yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus brevis* yang penyediaan starternya dalam bentuk cair. Penelitian tersebut menghasilkan kualitas sosis fermentasi yang terbaik adalah sosis fermentasi yang menggunakan starter kultur cair *Lactobacillus plantarum*. Studi tersebut dilanjutkan oleh Arief (2000) yang meneliti tentang kualitas sosis fermentasi yang menggunakan starter kultur kering dengan gabungan dari beberapa mikroba. Arief (2000) menemukan bahwa kombinasi mikroba yang menghasilkan kualitas fisik, kimia dan mikrobiologi sosis fermentasi adalah *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* dan *Micrococcus varians*.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan starter kultur ke dalam sosis fermentasi berhasil meningkatkan nilai nutrisi, keamanan pangan serta daya simpannya. Penelitian Arkuodelos *et al.* (1998) menunjukkan adanya eliminasi maupun penghambatan bakteri patogen *Salmonella*, sp dan *Staphylococcus aureus* pada produk fermentasi daging oleh starter kultur *Lactobacillus plantarum*. Zalacain *et al.* (1997) juga menyatakan bahwa penambahan *L. plantarum* ke dalam sosis fermentasi akan meningkatkan asam lemak bebas sehingga intensitas odor dan flavor menjadi tinggi. Arief (2000) melaporkan keamanan pangan sosis fermentasi yaitu setelah fermentasi selama 30 hari oleh *L. plantarum* pada sapi, tidak ditemukan adanya bakteri patogen *E. coli* dan *Salmonellae*, *Staphylococcus* menurun dari 10^6 CFU/g menjadi 10^3 CFU/g serta *Enterobacteriaceae* menurun dari 10^4 CFU/g menjadi 10^2 CFU/g.

Penelitian Arief (2000) mempunyai beberapa kelemahan diantaranya yang terpenting adalah bakteri yang digunakan untuk proses pembuatan sosis fermentasi tidak diisolasi dari daging sapi, namun merupakan bakteri yang diisolasi dari tanah dan dadih (susu kerbau fermentasi). Hal ini mengakibatkan masa adaptasi starter kultur ke dalam adonan sosis tidak stabil dan mempengaruhi daya antagonisme bakteri yang digunakan dengan mikroba patogen yang mengkontaminasi daging pada tahapan awal fermentasi. Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan menggunakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari daging sehingga akan lebih cepat beradaptasi dengan media daging serta menghasilkan kualitas sosis fermentasi yang lebih baik.

Kultur Bakteri Asam Laktat

Bakteri yang dikategorikan sebagai bakteri asam laktat adalah bakteri dari genus *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dulosigrahilum*, *Enterococcus*, *Glabicatella*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weisella*. Bakteri asam laktat termasuk kelompok bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang dan bulat, katalase negatif dan oksidase negatif serta bersifat anaerob fakultatif (Axelsson, 1998).

Berdasarkan kemampuannya dalam metabolisme glukosa dan produk akhir yang dihasilkan, bakteri asam laktat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk hasil fermentasi. Sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif yaitu bakteri yang menghasilkan asam laktat, CO₂ dan etanol dari metabolisme heksosa (Axelsson, 1998). Pengelompokan bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* berdasarkan produk yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengelompokan genus *Lactobacillus*

Karakteristik	Grup I Obligat Homofermentatif	Grup II Fakultatif Heterofermentatif	Grup III Obligat Heterofermentatif
Fermentasi pentosa	-	+	-
CO ₂ dari glukosa	-	-	+
CO ₂ dari glukonat	-	+	+
Phosphoketolase	-	+	+
	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. brevis</i>
	<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. buchneri</i>
	<i>L. helveticus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. salivarius</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. reuteri</i>

Sumber : Axelsson (1998); Ray (2001)

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus plantarum termasuk dalam famili *Lactobacillaceae*, genus *Lactobacillus* dan sub genus *Streptobacterium*. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu spesies *Lactobacillus* yang penting secara industri. *Lactobacillus plantarum* dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan bakteri gram negatif. Plantaricin merupakan bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* yang aktif pada kisaran pH 4,0 sampai 6,5 (Branen, 1993).

Spesies *Lactobacillus* yang potensial dalam menekan mikroba patogen adalah *Lactobacillus plantarum*. Aktifitas penghambatan terhadap *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sake* dan *Lactobacillus monocytogenes* berhubungan dengan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yaitu Plantarisin B (Jenie dan Rini, 1995).

Lactobacillus plantarum yang digunakan dalam pembuatan sosis fermentasi memiliki fungsi proteolitik. Aktifitas proteolitik ini dapat membantu mencapai kualitas sosis yang lebih baik karena proses degradasi protein berjalan secara alami (Fadda et. al., 1998).

Lactobacillus plantarum merupakan salah satu jenis bakteri *Lactobacillus* yang banyak digunakan pada produk-produk fermentasi seperti susu, sosis, roti, dan lain-lain. Adanya bakteri *L. plantarum* ini sangat dibutuhkan diantaranya untuk menghasilkan rasa yang asam pada produk akhir. Pada suhu di atas 30 °C *Lactobacillus plantarum*, bakteri ini pada *sauerkraut* (kobis asam) dan sayur asin akan menghasilkan produk akhir yang tidak berbau dan rasa yang terlalu asam (Muchtadi, 1997). *L. plantarum* juga merupakan mikroba yang dominan pada sosis fermentasi alamiah (tanpa starter) (Jay, 2000).

L. plantarum dapat menghambat mikroba patogen karena menghasilkan senyawa antimikroba seperti H₂O₂, asam-asam organik seperti asam benzoat (deVuyst dan Vandamme, 1995), asam laktat (Arief, 2000) serta memproduksi bakteriosin seperti laktolin, plantaricin dan plantacin (Davidson dan Hoover, 1993; deVuyst dan Vandamme, 1994; Kato *et al.*, 1994). Selain itu pula *Lactobacillus plantarum* juga bersifat proteolitik (Kato *et al.*, 1994). Hal ini menyebabkan protein daging menjadi terdegradasi dan keempukan daging akan meningkat.

Bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dapat diisolasi dari daging sapi segar yang dilakukan selama 24 jam. Keberadaan *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari daging sapi adalah sebesar 2,4% dari seluruh bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi (41 isolat). Karakteristik *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari daging sapi yaitu berbentuk bacillus / batang dalam rantai pendek-pendek, koloni melengkung sebagian tunggal dan ada yang berkelompok, Gram +, katalase negatif, dapat tumbuh pada medium NaCl 6,5% dan medium dengan pH 4 sampai 6,0 (Arief, *et al.*, 2005).

Lactobacillus fermentum

Fons *et. al.* (1997) *Lactobacillus fermentum* merupakan salah satu bakteri heterofermentatif yang utama dari spesies *Lactobacillus* pada saluran pencernaan manusia. Namun, saat ini *Lactobacillus fermentum* telah secara luas diproduksi pada industri fermentasi dan sebagai starter kultur pada industri susu. *Lactobacillus fermentum* adalah bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif dan merupakan organisme non-motil.

Pandey *et al.* (1994) menyatakan bahwa *Lactobacillus fermentum* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. typhimurium* dan *S. aureus*. *Lactobacillus fermentum* memproduksi gas CO₂, dapat tumbuh pada suhu 45°C namun pertumbuhannya buruk pada suhu 15°C. Strain *Lactobacillus fermentum* dapat tahan terhadap 0,3-10% cairan empedu, 0,3-0,4% fenol namun tidak pada medium dengan kandungan NaCl lebih dari 8%. Ketahanan terhadap cairan empedu merupakan faktor yang penting dalam pertahanan dan pertumbuhan bakteri asam laktat di dalam saluran pencernaan.

Lactobacillus fermentum termasuk bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif obligatif dan dimasukkan ke dalam golongan Betabakterium grup IIa. *Lactobacillus fermentum* mempunyai karakteristik dapat tumbuh pada suhu 45°C, dapat memfermentasikan gula jenis melibiosa, dan raffinosa tapi tidak dapat memfermentasikan amigladin, selobiosa, mannitol dan melezitosa serta hasil fermentasi terhadap arabinosa dan xilosa adalah dubius (Kandler dan Weiss, 1995).

Lactobacillus fermentum dapat diisolasi dari saluran pencernaan manusia dan hewan, silase, buah-buahan hasil fermentasi dan gandum yang difermentasi (Edward *et al.*, 1993), selain itu juga dari sosis fermentasi dari daging babi berasal dari Bali yang dikenal dengan sosis Urutan (Antara *et al.*, 2002). Hal ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus fermentum* dapat beradaptasi dan tumbuh pada sosis fermentasi. Lebih jauh, Beasley (2004) mengisolasi *Lactobacillus fermentum* LAB8 dari feses anjing dan bakteri tersebut dapat digunakan sebagai bakteri probiotik untuk fermentasi bahan pangan.

Arief *et al* (2005) telah mengisolasi beberapa bakteri dari daging sapi segar yang dijual di berbagai pasar tradisional di daerah Bogor. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa sebanyak 39% dari 41 jenis bakteri asam laktat yang diisolasi merupakan bakteri asam laktat *Lactobacillus fermentum*. Karakteristik yang diperoleh dari bakteri tersebut adalah mempunyai bentuk batang dengan koloni berkelompok dan rapat, bersifat Gram positif dan katalase negatif, dapat tumbuh pada medium NaCl 6,5% dan medium dengan pH 4 sampai 6,0.

Starter Kultur Kering

Sifat spesifik kultur starter dapat hilang akibat adanya transfer yang berulang-ulang dan penyimpanan yang tidak sesuai. Hal ini dapat diatasi dengan pengeringan starter. Starter yang dikeringkan dapat disimpan dalam suhu ruang selama beberapa tahun, tetapi derajat viabilitasnya sangat rendah, sehingga perlu dilakukan reaktifikasi starter (Rahman *et al.*, 1992).

Tamime dan Robinson (1989) menyatakan bahwa salah satu alternatif untuk pengawetan kultur adalah dengan pengeringan. Pengeringan starter bertujuan untuk memperpanjang umur simpan starter, mempermudah distribusi starter dan memudahkan pemeliharaan starter. Metode pengeringan yang biasa dilakukan adalah pengeringan vakum, pengeringan semprot dan pengeringan beku.

Metode pengeringan kultur yang paling banyak digunakan adalah pengeringan beku. Pengeringan beku merupakan pengeringan dengan pembekuan karena adanya perubahan dari bentuk es dalam bahan yang beku langsung menjadi uap air tanpa mengalami proses pencairan terlebih dahulu dan mempunyai keuntungan karena volume bahan tidak berubah sehingga mendekati bahan asalnya (Buckle *et. al.*, 1987).

Lewis (1993) menyatakan bahwa pengeringan beku merupakan proses pemindahan cairan dari starter dengan pembekuan yang hasilnya dapat disimpan di suhu ruang. Pengeringan beku sangat cocok untuk kultur starter. Pada proses pengeringan beku, starter cair dimasukkan ke dalam ampul kemudian ditutup rapat dengan penyumbat, diletakkan vertikal dan dihubungkan dengan *vacuum chamber*, lalu starter akan membeku dengan cepat dan dikeringkan dengan cara sublimasi.

Pengeringan dengan menggunakan pengeringan beku jauh lebih mahal untuk dipertimbangkan dalam skala komersial. Namun, metode ini menghasilkan viabilitas sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya. Kerusakan sel mikroba selama pembekuan dan pengeringan dapat diatasi dengan penambahan senyawa-senyawa kriogenik seperti ekstrak malt, sukrosa, glukosa, laktosa, gliserol, asam L-glutamat atau Na-glutamat, L-arginin, asetil glisin, kasiton dan gula-gula alkohol (Tamime dan Robinson, 1989).

Starter kultur dapat disediakan dalam bentuk cair dan kering. Starter cair mempunyai beberapa kelemahan diantaranya tidak efisien dalam penggunaannya

untuk skala industri dan mudah terkontaminasi oleh mikroba lainnya. Starter kultur kering dapat mengatasi kelemahan starter cair tersebut. Arief (2000) melakukan penelitian pembuatan starter kultur kering untuk sosis fermentasi melalui tiga metode yaitu oven vakum, *spray drying* dan *freeze drying*. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa metode *freeze drying* dapat mempertahankan viabilitas dan populasi mikroba yang ditambahkan dibandingkan dengan *spray drying* dan oven vakum. Metode pengeringan *freeze drying* dapat mempertahankan populasi *lactobacillus* yang ditambahkan pada jumlah 10^9 cfu/g, sedangkan populasi bakteri pada starter kering dengan metode *spray drying* menghasilkan populasi sebesar 10^8 cfu/g, dan metode oven vakum justru menurunkan populasi sebesar 10^6 cfu/g dibandingkan dengan populasi awal pada starter cair sebesar 10^8 cfu/ml.

Freeze drying adalah pembekuan yang diikuti dengan proses pengeringan. Pada proses *freeze drying* terjadi sublimasi yaitu perubahan dari bentuk es dalam bahan yang beku langsung menjadi uap air tanpa mengalami proses pencairan terlebih dahulu. Tamime dan Robinson (1989) juga menyatakan bahwa metode *freeze drying* merupakan metode terbaik untuk mengawetkan starter kultur. Hal ini sesuai dengan pendapat Makinen dan Bigret (1993) yang menyatakan bahwa metode *freeze drying* dapat mempertahankan kualitas kultur kering, dan menjaga aktivitas bakteri tidak terganggu.

Pada proses *freeze drying* perlu ditambahkan senyawa kriogenik untuk menjaga stabilitas kultur bakteri selama proses pengeringan. Salah satu senyawa kriogenik adalah sukrosa. Dibandingkan dengan maltosa, sukrosa lebih mampu menjaga kestabilan kultur bakteri (Arief, 2002). Sukrosa sebesar 10% dapat mempengaruhi ketersediaan gula untuk fermentasi dan cadangan nutrisi sekaligus berfungsi sebagai pengawet dalam penyimpanan kultur bakteri.

Susu skim merupakan media tumbuh yang dapat menstabilkan viabilitas bakteri yang digunakan. Selain itu, dalam pembuatan kultur kering, juga perlu ditambahkan zat pengisi, salah satunya adalah tepung beras. Penggunaan susu skim sebagai media tumbuh sebesar 10% dan penambahan tepung beras sebesar 20% dapat menghasilkan starter kultur kering tanpa mengurangi kualitasnya (viabilitas dan jumlah populasi bakteri yang digunakan). Penambahan tepung beras dilakukan

setelah proses perbanyakan starter kultur dalam media tumbuh susu skim (Arief, 2000).

Rempah-rempah

Rempah-rempah atau bumbu merupakan senyawa nabati yang dapat dikonsumsi, berperan dalam pembentukan flavor yang diperkuat dengan adanya pengasapan dan dapat membentuk warna serta menghambat proses oksidasi lemak (Buckle *et. al.*, 1987). Beberapa bumbu mempunyai sifat sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat timbulnya ketengikan. Penambahan bahan penyedap dan bumbu, terutama ditujukan untuk menambah atau meningkatkan flavor, bukan karena potensi preservatifnya (Urbain, 1971; Aberle *et. al.*, 2000).

Nitrit Pökeln Saltz (NPS)

Nitrit Pökeln Saltz (NPS) merupakan campuran antara garam dapur (NaCl) dan Nitrit (NaNO_2) dengan komposisi masing-masing 99,5% dan 0,5%. Penggunaan garam dapur secara tunggal pada produk olahan daging menyebabkan daging menjadi gelap, kering dan kasar sehingga kurang diterima oleh konsumen. Kombinasi garam dan nitrit digunakan untuk memperbaiki warna dan flavor (Hill, 1991).

Garam merupakan bahan tambahan makanan yang memiliki banyak peranan diantaranya sebagai bakteriostatik dan penyedap rasa. Garam juga dapat meningkatkan kelarutan protein otot dan meningkatkan daya mengikat air (DMA). Nitrit yang ditambahkan ke dalam adonan sosis dalam bentuk campuran dengan garam memiliki tiga fungsi yaitu perkembangan warna, pencegahan proses-proses oksidasi yang memicu ketengikan dan berkontribusi dalam mempertahankan bakteri Gram positif (Goutefongea, 1992).

Gula

Gula (sukrosa) selain digunakan sebagai pemanis, berfungsi pula sebagai pengawet. Sukrosa dan glukosa yang ditambahkan dalam komposisi adonan sosis akan berguna sebagai sumber karbohidrat untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, selain berperan pula dalam pembentukan citarasa dan tekstur sosis fermentasi yang

dihasilkan (Muchtadi, 1989; Bacus, 1984). Gula yang ditambahkan mempunyai fungsi untuk memodifikasi rasa dan untuk mendorong pertumbuhan bakteri asam laktat yang akan memulai proses fermentasi (Muchtadi dan Sugiyono, 1992).

Bawang Putih

Lucke (1997) menyatakan bahwa bawang putih mengandung antioksidan yang kuat dan dapat memperpanjang daya tahan sosis. Bawang putih (*Allium sativum*) menghasilkan 0,2% minyak atsiri yang mengandung diasil sulfida, diasil trisulfida, alil propil disulfida, allin dan alisin. Konsentrasi bubuk bawang putih 10% dapat menurunkan laju pertumbuhan *A. flavus*, sedangkan ekstrak bawang putih segar pada konsentrasi 0,5% dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Salmonella sp.* (Farrel, 1990).

Lada

Lada biasanya digunakan pada semua tipe sosis fermentasi sebanyak 0,2-0,3%. Lada (*Piper nigrum*) memproduksi beberapa komponen antara lain terpen, hidrat, α -felandren, dipenten dan β -kariofilin (Farrel, 1990). Ting dan Diable (1992) melaporkan bahwa lada dapat menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*.

Pala

Pala digunakan sebagai bumbu dalam pembuatan sosis fermentasi. Bumbu ini telah ditemukan dapat menstimulasi pembentukan asam laktat. Hal ini disebabkan oleh kandungan mangan yang terdapat di dalam pala. Mangan diperlukan oleh bakteri asam laktat untuk aktivitas-aktivitas enzim, termasuk kunci enzim glikolisis dan fructose-1,6-diphosphate aldolase (Lucke, 1997).

Pengasapan

Pengasapan pada proses pembuatan sosis fermentasi bertujuan untuk meningkatkan aroma, citarasa dan masa simpan produk. Pengasapan produk daging dimaksudkan untuk meningkatkan flavor dan penampakan produk yang lebih menarik. Sifat hasil pengasapan tersebut diperoleh karena terjadinya penyerapan komponen-komponen asap oleh permukaan bahan (Soeparno, 1994).

Kayu yang baik untuk pengasapan adalah kayu yang banyak menghasilkan asap dan lambat terbakar. Jenis kayu yang banyak digunakan adalah kayu kaswari, kayu bakar dan kayu keras lainnya. Selain itu, tempurung kelapa, sabur kelapa dan serbuk gergaji dapat digunakan untuk proses pengasapan (Rieuwpassa, 1991).

Proses pengasapan akan menghasilkan karbonil dan proses pirolisis selulosa dan hemiselulosa. Pembentukan warna dimulai ketika karbonil diserap pada permukaan produk. Pirolisis pada lignin akan memproduksi fenolat, yang berfungsi menimbulkan aroma. *Guaiacol* merupakan unsur fenolat yang menimbulkan rasa asap sedangkan *syringol* merupakan unsur fenolat yang menimbulkan bau asap pada produk (Ellis, 2001).

Bakteri Patogen

Koliform

Koliform termasuk bakteri anaerob fakultatif, psikotropik, Gram negatif dan biasanya ditemukan sebagai kontaminan pada karkas ayam (Cunningham dan Cox, 1987). Kelompok bakteri koliform terdiri atas jenis *Escherichia*, *Enterobacter* dan *Klebsiella*. Jenis *Escherichia* hanya mempunyai satu spesies, yaitu *E. coli* dan disebut koliform fekal, karena ditemukan di dalam saluran pencernaan ternak atau manusia sehingga sering terdapat di dalam feses. Keberadaan bakteri tersebut sering digunakan sebagai indikator kontaminasi asal kotoran (McGraw, 1999). Spesies *Enterobacter* seperti *E. aerogenes* disebut koliform non fekal karena bukan merupakan floral normal dalam saluran pencernaan, melainkan ditemukan pada tanaman atau hewan yang telah mati dan sering menimbulkan lendir pada makanan.

Menurut Potter (1973) ciri-ciri proses pembusukan akibat bakteri koliform yaitu (1) bakteri dapat tumbuh baik dalam bermacam-macam substrat serta menggunakan sejumlah karbohidrat makanan dan beberapa senyawa organik lainnya untuk energi dan hampir sejumlah senyawa nitrogen sederhana sebagai sumber nitrogen, (2) bakteri koliform dapat mensintesa sejumlah vitamin yang penting, (3) bakteri koliform mampu tumbuh pada kisaran suhu luas yaitu 10-46°C, (4) bakteri koliform mampu untuk memproduksi asam dan gas dari uji biokimia gula-gula, (5) bakteri koliform dapat menyebabkan penyimpangan bau, seringkali digambarkan

sebagai "tidak bersih" pada permukaan makanan, (6) beberapa jenis bakteri koliform tertentu seperti *E. aerogenes* menyebabkan daging berlendir dan lembek.

Staphylococcus

Staphylococcus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,7-0,9 μm dan termasuk famili *Micrococcaceae*. Bakteri ini tumbuh secara anaerobik fakultatif dengan membentuk kumpulan sel-sel seperti buah anggur (Fardiaz, 1989). Bakteri ini memfermentasi glukosa dan manitol menghasilkan asam pada kondisi anaerobik, akan tetapi sangat lambat dalam pertumbuhannya. Bakteri ini sering ditemukan pada makanan yang mengandung protein, misalnya sosis, telur dan daging (Fardiaz, 1989).

Staphylococcus adalah mikroorganisme yang umum ditemukan pada luka hewan, kandang dan pakan hewan. *Staphylococcus* dapat tumbuh dengan cepat dalam makanan dan beberapa strain dapat memproduksi toksin yang menyebabkan diare. Keracunan *Staphylococcal* secara essensial adalah suatu bentuk racun kimiawi (Varnam dan Sutherland, 1995).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu spesies dari *Staphylococcus* yang memiliki sifat patogen berbahaya dengan penyebaran terbatas (Fardiaz, 2000). *Staphylococcus aureus* akan mati dalam proses pemanasan pada suhu 66°C selama 10 menit, namun enterotoksinya dapat bertahan pada suhu 100°C selama 30 menit. Keberadaan *Staphylococcus* di dalam daging dan produk daging menandakan terjadinya kontaminasi oleh pekerja, tempat pemotongan dan ternak asal, sehingga bakteri ini dijadikan indikator sanitasi proses produksi (Fardiaz, 1989).

Salmonella

Salmonella spp. termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, anaerob fakultatif, Gram positif dan motil dengan flagella peritrikus. Suhu optimum pada 35-37°C dengan kisaran 2-47°C, oksidase negatif dan katalase positif (Lund, et. al., 2000). Ukuran selnya 0,7-1,5 x 2,0-5,0 μm , memiliki kemampuan mengkatabolisme D-glukosa dan karbohidrat lainnya menjadi asam dan gas.

Salmonella spp. termasuk bakteri patogen berbahaya karena dapat menimbulkan penyakit seperti tipus, paratipus dan salmonellosis. Masa inkubasi sampai timbulnya gejala keracunan *Salmonella* lebih singkat dibandingkan dengan gejala demam enteritik, yaitu berkisar antara 6 sampai 72 jam, dengan rata-rata 12-24

jam. Gejala keracunan yang timbul terutama adalah molas, diare dan pireksis (Fardiaz dan Jenie, 1989).

Salmonella merupakan bakteri yang tidak tahan panas. Perlakuan dengan pemanasan, misalnya, perebusan, merupakan salah satu cara termudah untuk membunuh bakteri ini. Nilai D *Salmonella* bervariasi tergantung dari substrat tempat pemanasannya, yaitu antara 0,06 sampai 11,3 menit pada suhu 60°C (Fardiaz dan Jenie, 1989).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bahan pembuatan starter kultur kering.

Bahan yang digunakan adalah kultur murni *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* yang diisolasi dari daging sapi, susu skim bubuk, sukrosa, tepung beras dan aquades.

2. Bahan pembuatan sosis fermentasi

Bahan yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

- a. Daging sapi bagian *topside* (paha belakang) dan lemak sub cutan dari sapi yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan di Kodya Bogor. Daging dan lemak sapi diperoleh dari sapi yang sama .

- b. Daging domba bagian paha dan lemak domba yang diperoleh dari RPH di Kodya Bogor dan berasal dari domba yang sama.

- c. Bahan-bahan tambahan antara lain : *casing* kolagen, gula, garam, NPS, starter kultur kering, serbuk gergaji kayu sengon dan bumbu-bumbu yang terdiri dari ketumbar, lada, bawang putih, jahe dan lengkuas.

3. Bahan-bahan analisa

Bahan-bahan analisa yang akan digunakan terdiri dari bahan kimia untuk analisa fisik dan kimia serta bahan untuk analisa mikrobiologi yaitu media pertumbuhan bakteri yang terdiri dari de Man Rogosa Sharp- Broth (MRS-B), Nutrient Agar (NA), , Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), *Salmonella-Shigella* Agar (SSA), *Staphylococcus* Medium, Bacto Peptone Water (BPW) dan aquades.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial $2 \times 2 \times 4$ dengan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis bakteri asam laktat yang digunakan pada starter kultur kering ($A_1 = L. plantarum$, $A_2 = L. fermentum$). Faktor kedua adalah jenis daging yang digunakan ($B_1 =$ daging sapi dan $B_2 =$ daging domba). Faktor ketiga yang digunakan sebagai

dasar kelompok adalah lama penyimpanan starter kultur kering ($C_1 = 0$ hari, $C_2 = 15$ hari, $C_3 = 30$ hari dan $C_4 = 45$ hari). Ulangan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebanyak 3 ulangan.

• Data hasil uji kualitas mikrobiologi terlebih dahulu ditransformasi logaritma (log 10) terlebih dahulu sebelum dianalisis secara statistik. Data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam, apabila ditemukan perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1995).

Model analisis yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

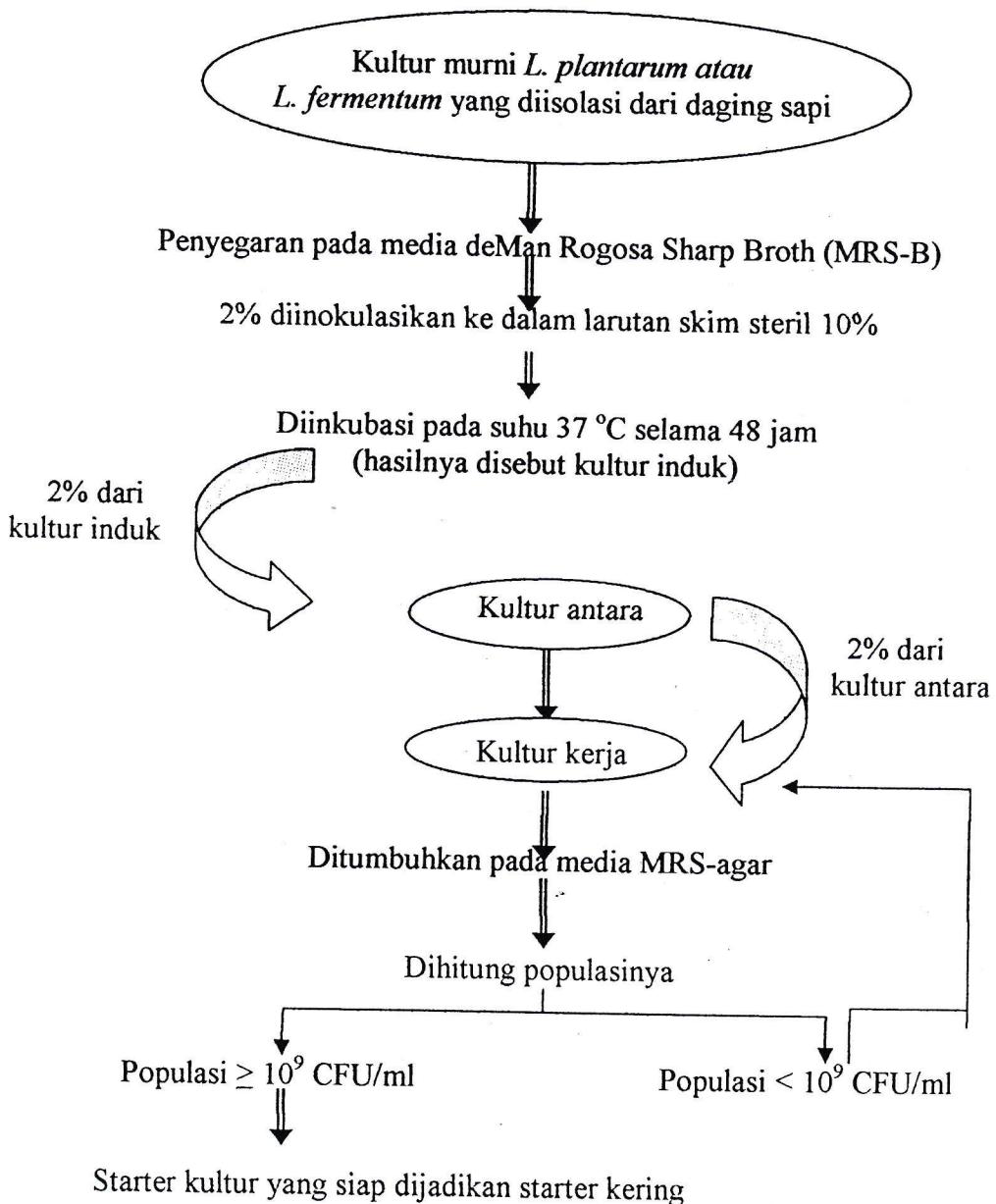
Keterangan :

- Y_{ijkl} = respon pengaruh perlakuan jenis daging yang digunakan (A) dan kelompok lama penyimpanan (B), pada ulangan ke-l.
 μ = rata-rata
 A_i = pengaruh taraf ke - i faktor jenis bakteri starter kultur kering (A1 dan A2)
 B_j = pengaruh taraf ke-j faktor jenis daging (B1 dan B2)
 C_k = pengaruh taraf ke-k faktor lama penyimpanan starter kultur kering (C_1 sampai C_4)
 AB_{ij} = interaksi antara taraf ke-i faktor A dengan taraf ke-j faktor B
 AC_{ik} = interaksi antara taraf ke- i faktor A dengan taraf ke- k faktor C
 BC_{jk} = interaksi antara taraf ke-j faktor B dengan taraf ke- k faktor C
 ABC_{ijk} = interaksi taraf ke-I faktor A dengan taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
 ε_{ijk} = galat percobaan

Tahapan Penelitian

a. Pembiakan Kultur

Penelitian ini diawali dengan pembiakan starter kultur *L. plantarum* dan *L. fermentum*. Kultur yang akan dipakai adalah kultur murni hasil isolasi dari daging sapi (Arief, et al., 2005). Proses pembiakan starter dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pembiakan Starter Kultur

b. Pembuatan Starter Kering

Starter Kultur kering dibuat dengan menggunakan media pertumbuhan larutan susu skim 10% dengan tambahan bahan kriogenik sukrosa 10%. Tahapan proses pembuatan starter kultur kering ditampilkan pada Gambar 2.

1 liter larutan susu skim 10% dan ditambah sukrosa 10%

Disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit

Didinginkan sampai mencapai suhu ruang ($25-27^{\circ}\text{C}$)

Diinokulasikan dengan 2% (v/v) kultur kerja (*L.plantarum* atau *L.fermentum*)

Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 jam

Populasi mikroba dihitung

Jumlah populasi $\geq 10^8-10^9 \text{ cfu/ml}$

Jumlah populasi $< 10^8-10^9 \text{ cfu/ml}$

Dilanjutkan ke

tidak dilanjutkan

Ditambah 20% tepung beras yang telah disterilkan

Pembekuan pada suhu -20°C selama 24 jam

Pengeringan beku dengan menggunakan *freeze dryer* pada suhu -90°C selama 48 jam

Kultur kering

Populasi mikroba dihitung

Gambar 2. Proses pembuatan starter kultur kering (Arief, 2000)

Selanjutnya, starter kultur kering disimpan dengan menggunakan bahan pengemas alumunium foil. Penyimpanan dilakukan pada suhu dingin yaitu $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ di dalam refrigerator selama 15, 30 dan 45 hari. Pemilihan lama penyimpanan ini berdasarkan pada penelitian Arief (2000) yang membuat starter kultur kering dan mampu disimpan dalam pengemas plastik *ethylene* dalam refrigerator sampai dengan 15 hari tanpa mengubah viabilitasnya. Oleh karenanya, jika dikemas dengan alumunium foil diharapkan kualitas starter kultur kering tidak mengalami perubahan dan masih dapat dipakai dalam pembuatan sosis fermentasi. Lama penyimpanan diharapkan dapat diperpanjang sampai dengan 45 hari.

3. Pembuatan Sosis Fermentasi

Pembuatan sosis fermentasi dilakukan pada hari ke-0, ke-15, ke-30 dan ke-45 penyimpanan starter kering beku. Proses pembuatan sosis fermentasi dilakukan sebanyak 3 kali ulangan untuk masing-masing jenis daging sapi dan daging domba yang digunakan, sehingga jumlah pembuatan sosis fermentasi adalah 12 kali pada masing-masing lama penyimpanan starter kering *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* (0, 15, 30 dan 45 hari).

Sebelum dilakukan pembuatan sosis fermentasi, daging yang akan dijadikan bahan baku pembuatan sosis terlebih dahulu dilakukan analisa kualitas fisik, kimia dan mikrobiologi.

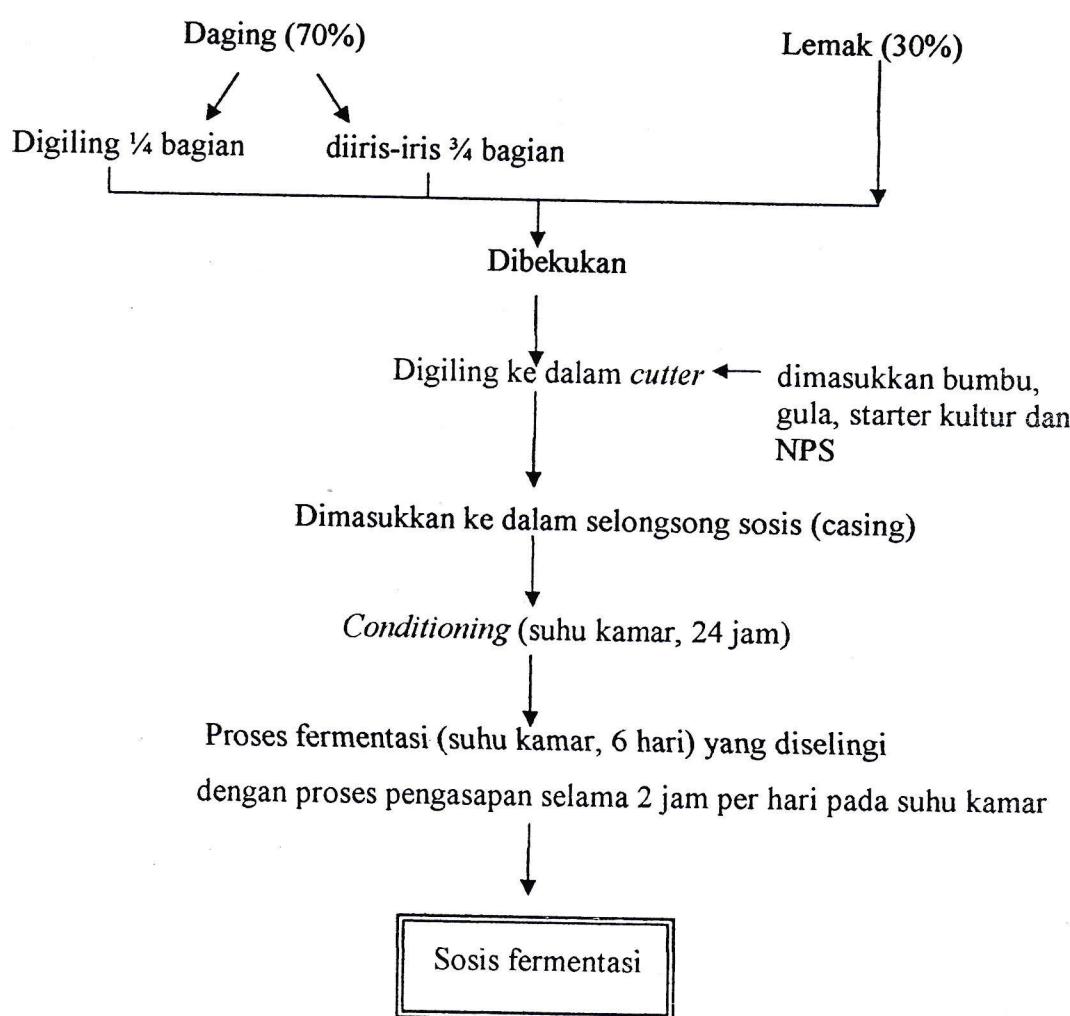
Proses pembuatan sosis fermentasi yang akan dilakukan adalah sebagai berikut : daging dibagi menjadi dua bagian yaitu seperempat bagian digiling dan tiga per empat bagian diiris-iris, lalu dibekukan. Daging dan lemak yang telah dibekukan kemudian dicampur dan digiling ke dalam cutter dengan penambahan berturut-turut bumbu, gula pasir 0,5%, starter kultur dan garam NPS sebanyak 2% dari total adonan. Starter kultur kering yang ditambahkan harus mempunyai jumlah populasi minimal 10^8 cfu/g (Overby, 1998), dan penambahannya sebanyak 2%. (b/v). Temperatur proses penggilingan ini harus dijaga dan tidak melebihi 2°C . Adonan dengan kehalusan sebsar menir (butiran beras) kemudian dimasukkan ke dalam selongsong sosis (casing) yang mempunyai diameter 5 cm.

Proses *conditioning* dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam, yang dilanjutkan dengan pengasapan dingin selama 6 hari, pada suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 2

jam per harinya, yang kemudian setelah pengasapan dilakukan proses fermentasi dan pematangan sosis dalam ruang fermentasi pada suhu kamar.

Setelah 6 hari proses fermentasi berlangsung maka akan diperoleh sosis fermentasi. Setelah sosis fermentasi terbentuk maka dilakukan analisa kualitas fisik, kimia dan mikrobiologi.

Tahapan proses pembuatan sosis fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses Pembuatan Sosis Fermentasi (Arief, 2000)

Prosedur Analisis Peubah yang Diukur

1. Pengukuran Viabilitas Starter Kultur Kering

Viabilitas atau daya tumbuh bakteri *L.plantarum* dan *L.fermentum* dalam bentuk starter kultur kering dihitung pada hari ke-0 setelah menjadi starter kering, dan selama penyimpanan pada hari ke-15, 30, dan 45. Viabilitas diukur sebelum starter kultur kering diinokulasikan ke dalam pembuatan sosis fermentasi. Cara pengukuran viabilitas adalah sebagai berikut : sebanyak 1 g starter kultur kering diencerkan menjadi 10 ml dengan larutan BPW steril dan diencerkan sampai P⁻⁵. Pemupukan dilakukan dengan metode sebar (*spread method*) pada medium MRSA (deMan Rogosa Sharp Agar) yang telah membeku dalam cawan petri steril menggunakan *hockey stick*. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, kemudian dihitung jumlah koloni yang hidup.

2. Analisis Kualitas Fisik Sosis Fermentasi

a. Nilai pH (AOAC, 1995)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter Corning. Caranya adalah pH meter dikalibrasi dengan larutan standar (ber-pH 4 dan 7), kemudian pada sampel daging fermentasi sebanyak 5 g dihancurkan dengan blender dan dilarutkan ke dalam 45 ml akuades lalu elektroda pH meter dimasukkan ke dalam larutan daging dan dilihat nilai pH-nya.

b. Total Asam Tertitrasi (Apriyantono dkk., 1989)

Profil perubahan total asam tertitrasi yang terakumulasi dalam serabut otot selama fermentasi dideteksi dengan metode titrasi. Kedua bakteri asam laktat akan menghasilkan asam yang sebagian besar adalah asam laktat selama proses fermentasi berlangsung, sehingga diasumsikan total asam tertitrasi adalah asam laktat.

Sampel daging sebanyak 5 g dihaluskan dan dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml lalu dilakukan pengenceran dengan akuades sampai tanda tera. Larutan sampel sebanyak 50 ml diambil dan dimasukkan ke dalam gelas piala, kemudian

ditambahkan dua sampai tiga tetes indicator phenolptalein dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda yang tetap.

Total asam tertitrasi dihitung sebagai persen asam laktat dengan rumus:

$$\% \text{ asam laktat} = \frac{\text{NaOH (ml)} \times \text{N.NaOH} \times \text{BM} \times \text{FK}}{\text{sampel (g)}} \times 100\%$$

Keterangan :

N = normalitas

BM = berat molekul asam laktat (90), 1 ml NaOH 0,1 N = 0,009 g asam laktat

FK = faktor pengencer

c. Daya Mengikat Air (DMA)

Pengukuran dilakukan dengan metode penekanan (press method), sesuai petunjuk Hamm yang dikutip Soeparno (1998). Caranya adalah sebagai berikut : sampel sosis fermentasi seberat 0,3 g diletakkan diantara dua kertas saring. Setelah itu sampel tersebut diletakkan diantara dua plat (alat penekan modifikasi Hamm), dan ditekan dengan beban seberat 35 kg selama 5 menit.

Daerah yang tertutup sampel daging dan daerah yang tertutup air daging ditandai dan diukur dengan planimeter. Daya ikat air berbanding terbalik dengan mgH_2O . mgH_2O menyatakan jumlah air bebas yang keluar dari daging dan dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Mg H}_2\text{O} = \frac{\text{Daerah basah (cm}^2\text{)}}{0,0948} - 8,0$$

Keterangan :

Daerah basah : luas daerah penyerapan air pada kertas saring setelah dijepit selama 5 menit = daerah tertutup air daging – daerah tertutup sampel daging

d. Daya iris (shear force)

Daya iris daging memberikan informasi keempukan daging tersebut. Pengukuran daya iris dilakukan dengan alat Instron dengan probe jenis Warner-Bratzler meat shear, sesuai petunjuk Swatland (1984). Grafik dihasilkan setelah sampel daging dikenai irisan pisau selama beberapa detik sampai terbelah dua. Daya iris ditentukan dengan membaca puncak grafik (pada sumbu vertikal grafik) yang terekam selama pemotongan sampel daging. Perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{Daya iris} = \frac{\text{X (kg)}}{\text{Tebal sampel daging (mm)}}$$

Keterangan : X = puncak grafik = nilai shear (kg)

e. Aktivitas air (a_w)

Pengukuran a_w dilakukan dengan menggunakan a_w -meter Shibaura WA-360. Sebelumnya alat dikalibrasi dengan menggunakan larutan NaCl jenuh pada kertas saring dan diletakkan pada cawan, kemudian a_w meter diset sampai dengan 0,7509. Sampel dipotong dengan ketebalan 0,2 cm dan diletakkan dalam cawan pengukur, setelah ditutup dan dikunci alat dijalankan sampai menunjukkan tanda completed nilai a_w dapat dibaca.

3. Analisis Kimia Sosis Fermentasi

a. Kadar Air (AOAC, 1995).

Kadar air ditentukan secara langsung dengan menggunakan oven pada suhu 105 °C. Sampel sebanyak lima gram dikeringkan selama 15 jam dalam oven sampai beratnya tetap. Kadar air dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{A} - \text{B}}{\text{D}} \times 100\%$$

Keterangan : A = berat wadah dan sampel awal

B = berat wadah dan sampel setelah dikeringkan

D = Berat sampel

b. Kadar Protein (AOAC, 1995).

Kadar protein dalam sampel dianalisis dengan menggunakan metode Kjeldahl yang merupakan analisis kadar total N. Sejumlah sampel 0,3 g dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambahkan dengan katalis secukupnya dan 25 ml H₂SO₄ pekat. Campuran dipanaskan dalam pembakar bunsen. Sampel didestruksi hingga jenuh dan berwarna hijau kekuningan. Labu destruksi didinginkan dan larutan dimasukkan ke dalam labu penyuling kemudian diencerkan dengan 300 ml air yang tidak mengandung N dan ditambahkan dengan NaOH 33%. Labu penyuling dipasang dengan cepat di atas alat penyuling sehingga 2/3 cairan dalam labu penyuling yang menguap ditangkap oleh larutan H₂SO₄ berindikator labu erlenmeyer. Kelebihan H₂SO₄ dalam erlenmeyer dititar dengan menggunakan larutan NaOH 0,3 N (Z ml) sampai terjadi perubahan warna menjadi kehijauan kemudian dibandingkan dengan titar blanko (Y ml).

$$\% \text{ N} = \frac{(Y - Z) \times \text{NaOH} \times 0,014}{\text{gram contoh}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ N} \times 6,25 \text{ (faktor koreksi)}$$

c. Kadar Lemak (AOAC, 1995)

Labu lemak terlebih dahulu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C, dan didinginkan dalam desikator serta dihitung beratnya. Contoh sebanyak 5 gram dalam bentuk kering dibungkus dalam kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam alat ekstraksi soxhlet. Alat kondensor diletakkan di atas dan labu lemak diletakkan di bawahnya. Pelarut heksana dimasukkan ke dalam labu lemak secukupnya. Selanjutnya dilakukan refluks selama minimal 6 jam sampai pelarut yang turun kembali ke dalam labu lemak berwarna jernih.

Labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C untuk mengeluarkan sisa pelarut hingga mencapai berat yang konstan, kemudian didinginkan dalam desikator. Labu lemak kemudian ditimbang dan berat lemak dapat diketahui.

$$\text{Kadar lemak (\% bb)} = \frac{\text{Berat lemak (gram)}}{\text{Berat contoh (gram)}} \times 100$$

4. Analisis Kualitas Mikrobiologi

Sebelum dilakukan analisis mikrobiologi, sampel dipersiapkan terlebih dahulu dengan cara sebagai berikut : sebanyak 25 g sampel dimasukkan ke dalam plastik *stomacher* steril lalu ditambahkan 225 ml larutan pengencer steril, kemudian dihancurkan dengan alat *stomacher* hingga diperoleh campuran yang homogen dengan konsentrasi 0,1 g/ml. Sampel ini kemudian diencerkan dengan larutan pengencer sesuai dengan kebutuhan dan siap untuk *plating*.

a. Total Bakteri Asam Laktat

Prosedur analisa total bakteri asam laktat dilakukan dengan metode tuang sesuai petunjuk APHA (1992). Media tumbuh yang digunakan adalah deMan Rogosa Sharpe Agar (MRS-A). Sampel sebanyak 1 gram diencerkan sampai pengenceran ke-9 lalu dipupukkan ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan dihitung populasinya. Koloni yang tumbuh berwarna putih atau kekuningan merupakan koloni bakteri asam laktat dari kultur bakteri yang ditambahkan.

b. Analisis Kuantitatif Angka Lempeng Total Bakteri

Angka lempeng total bakteri (ALTB) diketahui dengan melakukan pemupukan berdasarkan prosedur dari APHA (1992). Daging sebanyak 5 g diblender bersama 45 ml BPW sebagai pengenceran pertama (P^{-1}). Pengenceran selanjutnya didapatkan dengan memindahkan 1 ml pengenceran sebelumnya ke dalam 9 ml pengencer menggunakan pipet steril sampai P^{-5} . Tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri. Sekitar 12-15 ml Nutrient Agar (NA) ditambahkan di tiap cawan. Sampel dan agar dihomogenkan dan dibiarkan memadat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48±2 jam.

c. Analisis kuantitatif *Enterobacteriaceae*

Pengukuran jumlah populasi *enterobacteriaceae* menggunakan prosedur APHA (1992) dengan tahapan kerja yang sama dengan pengukuran ALTB, namun media yang digunakan berbeda yaitu VRB (Violet Red Bile) yang ditambah 1% glukosa (medium VRBG). Koloni yang tumbuh akan berwarna merah.

d. Analisis kuantitatif total *Staphylococcus*

Pengukuran total *Staphylococcus* juga dilakukan berdasarkan metode APHA (1992) dengan media tumbuh *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambah dengan kalium tellurit 1%.

e. Analisis kuantitatif *Escherichia coli*.

Sampel dipupukkan ke dalam cawan yang telah berisi media *Eosyn Methylene Blue Agar* (EMBA) beku. Sampel disebarluaskan dengan alat *hockey stick* yang steril hingga merata. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C. **Analisis penentuan starter terpilih.** Starter kultur kering yang dipilih untuk dijadikan starter kultur sosis fermentasi adalah starter yang memiliki nilai perbandingan persentase viabilitas kultur kering dan kultur cair yang lebih besar. Cara perhitungan persentase viabilitas kultur adalah sebagai berikut.

$$\frac{\text{Viabilitas kultur kering} \times 100\%}{\text{Viabilitas kultur cair}}$$

Analisis mikrobiologi. Peubah yang diamati selama proses fermentasi berlangsung meliputi kualitas mikrobiologi sosis fermentasi yaitu jumlah kuantitatif angka lempeng total bakteri (ALTB), total bakteri asam laktat, jumlah total bakteri koliform, jumlah total bakteri *Staphylococcus* dan jumlah total bakteri *Salmonella*.

Analisis Kuantitatif Angka Lempeng Total Bakteri (Fardiaz, 1989). Perhitungan jumlah total bakteri dilakukan dengan melakukan pengenceran secara desimal. Sebanyak lima gram sosis dimasukkan ke dalam 45 ml larutan BPW dan dihomogenisasi menggunakan *stomacher* untuk mendapatkan pengenceran 1/10 (10^{-1} = P-1). Pengenceran dilakukan juga untuk P-3, P-5 dan P-7. Pemupukan dilakukan secara aseptik dengan memasukkan satu mililiter larutan dari masing-masing pengenceran ke dalam cawan Petri steril dan ditambahkan medium *Nutrient Agar* (NA). Larutan dan medium agar kemudian dihomogenkan dengan menggerakkan cawan di atas meja membentuk angka 8. Bila agar telah mengeras, cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

$$\text{Colony Forming Unit (CFU) per gram} = \frac{\text{jumlah koloni} \times 1}{\text{Pengenceran}}$$

Total Bakteri Asam Laktat (Fardiaz, 1989). Metode analisis yang digunakan sama dengan metode pada perhitungan total bakteri, yaitu pengenceran pada P-1, P-3, P-5 dan P-7 serta pemupukan ke dalam cawan Petri untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Medium pertumbuhan yang digunakan pada analisis total bakteri asam laktat adalah *de Man Rogosa Sharp Agar* (MRSA). Setelah diinkubasi, jumlah bakteri asam laktat yang tumbuh dihitung. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh berwarna putih atau kekuningan.

Analisis Kuantitatif Koliform (APHA, 1992). Penghitungan jumlah bakteri koliform dilakukan dengan analisis pendugaan menggunakan metode hitungan cawan. Media pertumbuhan yang digunakan adalah *Violet Red Bile Agar* (VRBA). Sebelumnya terlebih dahulu dilakukan pengenceran P-1, P-3, P-5 dan P-7 seperti pada analisis kuantitatif angka lempeng total bakteri. Sebanyak masing-masing satu mililiter dari larutan hasil pengenceran dipupukkan pada cawan Petri, kemudian ditambahkan dengan medium VRBA sebanyak \pm 12 ml. Homogenisasi dilakukan dengan memutar cawan Petri membentuk angka delapan. Setelah agar mengeras, ditambahkan kembali medium VRBA sebanyak \pm 5 ml ke atas permukaan agar tersebut hingga membentuk dua lapisan (double layer). Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dihitung dengan metode SPC (Standard Plate Count). Karakteristik koloni koliform yang tumbuh pada media VRBA berwarna merah tua dengan diameter 0,5 mm atau lebih, dikelilingi areal yang menunjukkan pengendapan indikator *Neutral Red*.

Analisis Kuantitatif Total *Staphylococcus* (Fardiaz, 1993). Perhitungan total *Staphylococcus* dilakukan dengan metode hitungan cawan seperti halnya penghitungan angka lempeng total bakteri. Sebanyak masing-masing satu mililiter dari pengenceran P-1, P-3, P-5 dan P-7 dipupukkan ke dalam cawan Petri steril, kemudian ditambahkan medium *Staphylococcus Medium* sebanyak \pm 12 ml. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu dihitung populasinya dengan melihat karakteristik koloni yang berwarna kuning bening.

Analisis *Salmonella* (APHA, 1992). Media pertumbuhan yang digunakan pada analisis pendugaan *Salmonella* adalah *Salmonella-Shigella Agar* (SSA). Sebanyak masing-masing satu mililiter dari pengenceran P-1, P-3, P-5 dan P-7 dipupukkan ke dalam cawan Petri steril, kemudian ditambahkan medium SSA sebanyak \pm 12 ml.

Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24-48 jam lalu dihitung populasinya dengan melihat karakteristik koloni yang berwarna kuning keruh dengan titik hitam di tengah. Bila terlihat karakteristik tersebut, maka dilanjutkan dengan uji lanjut IMVIC.

Prosedur

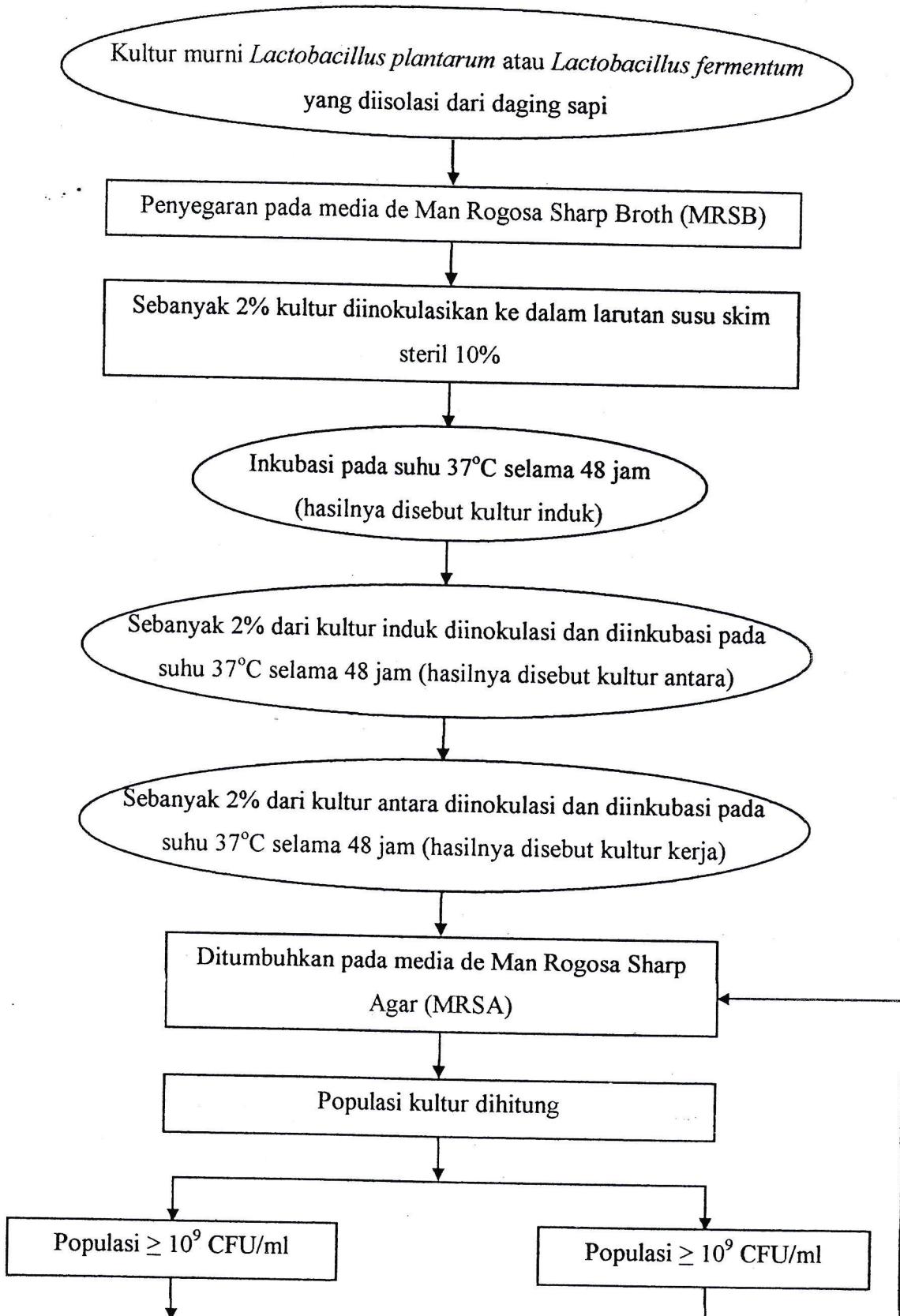
Pembuatan Kultur (Arief, 2000)

Pembiakan Kultur. Penelitian ini diawali dengan pembiakan kultur *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*. Kultur yang akan dipakai adalah kultur murni hasil isolasi dari daging sapi. Kultur murni dilakukan penyegaran pada media de Man Rogosa Sharp Broth (MRSB), kemudian sebanyak 2% diinokulasikan ke dalam larutan skim steril 10%. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam yang hasilnya disebut kultur induk. Sebanyak 2% dari kultur induk diinokulasikan dan diinkubasi kembali yang hasilnya disebut kultur antara. Kemudian sebanyak 2% dari kultur antara diinokulasikan dan diinkubasi kembali yang hasilnya disebut kultur kerja. Kultur kerja ditumbuhkan pada media de Man Rogosa Sharp Agar (MRSA) dan dihitung populasinya. Kultur yang memenuhi syarat untuk siap dijadikan kultur kering adalah kultur dengan populasi $\geq 10^9$ CFU/ml. Diagram alur pembiakan kultur disajikan pada gambar 1.

Pembuatan Kultur Kering. Starter kultur kering dibuat dengan menggunakan media pertumbuhan larutan susu skim 20% dengan tambahan bahan kriogenik sukrosa 10%. Sebanyak 1 liter larutan susu skim 20% ditambah sukrosa 10% dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang (25-27°C) dan diinokulasi dengan 2% kultur kerja (*Lactobacillus plantarum* atau *Lactobacillus fermentum*). Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam dan dihitung populasinya. Bila jumlah populasi kurang dari 10^8 Cfu/ml maka pembuatan kultur kering tidak dilanjutkan. Bila jumlah populasi lebih dari 10^8 CFU/ml, maka kultur kemudian ditambahkan dengan 20% susu skim bubuk yang telah disterilkan. Kultur selanjutnya dikeringbekukan dengan *freeze dryer* pada suhu -90°C selama 48 jam. Kultur hasil proses *freeze drying* selanjutnya dihitung populasinya dan digunakan sebagai kultur fermentasi. Diagram alur pembuatan starter kultur kering disajikan pada gambar 2.

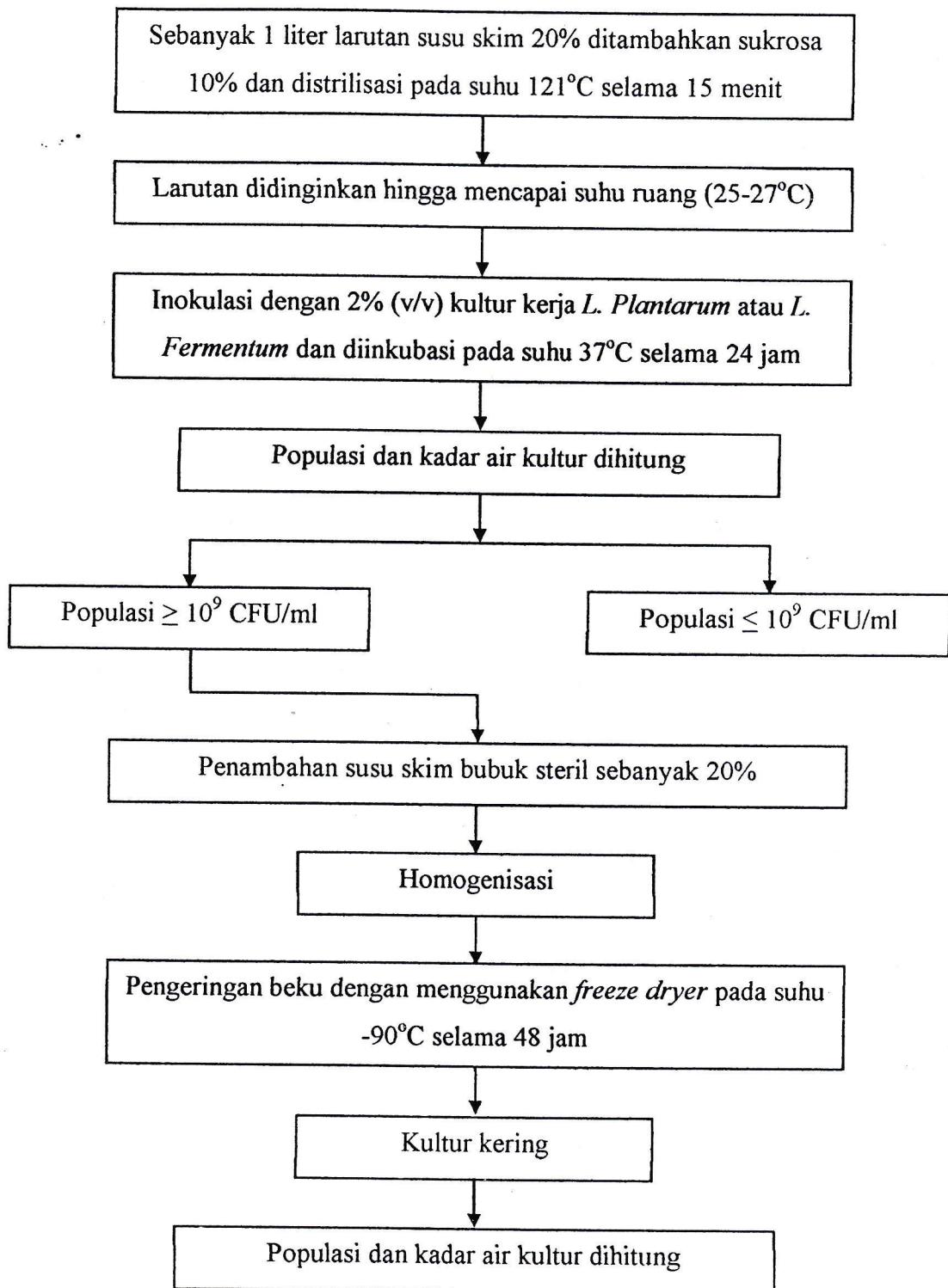
Pembuatan Sosis Fermentasi (Abustam, 2000)

Pembuatan sosis fermentasi dilakukan dengan terlebih dahulu standarisasi daging sebanyak 70% dengan mengelompokkan daging utuh dan daging yang masih mengandung lemak. Lemak sebanyak 30% distandarisasi dengan memisahkan lemak utuh dengan lemak yang masih mengandung daging. Daging yang telah distandarisasi dibagi menjadi dua bagian yaitu seperempat bagian digiling dan tiga perempat bagian lainnya diiris-iris, kemudian dibekukan. Daging kemudian digiling di dalam *couper*, lalu dimasukkan secara berurutan NPS, gula, starter kultur dan bumbu-bumbu. Adonan yang telah terbentuk dimasukkan ke dalam selongsong sosis (casing). Proses *conditioning* dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi pada suhu kamar selama 6 hari yang diselingi dengan proses pengasapan selama 2 jam setiap harinya pada suhu kamar. Diagram alir pembuatan sosis fermentasi dapat dilihat pada gambar 3.

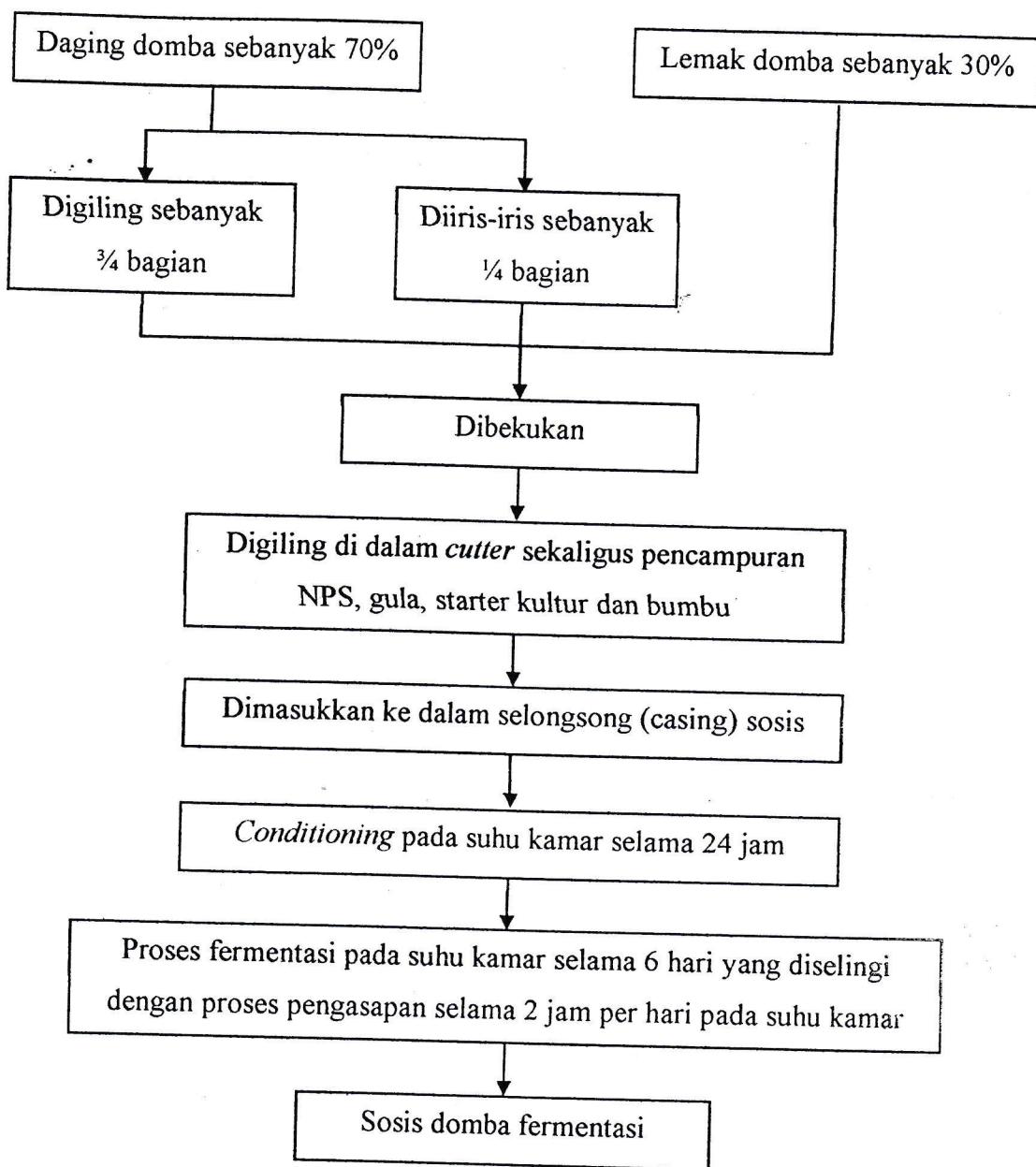


Starter siap dijadikan starter kering

Gambar 1. Pembiakan starter kultur



Gambar 2. Proses pembuatan starter kultur kering

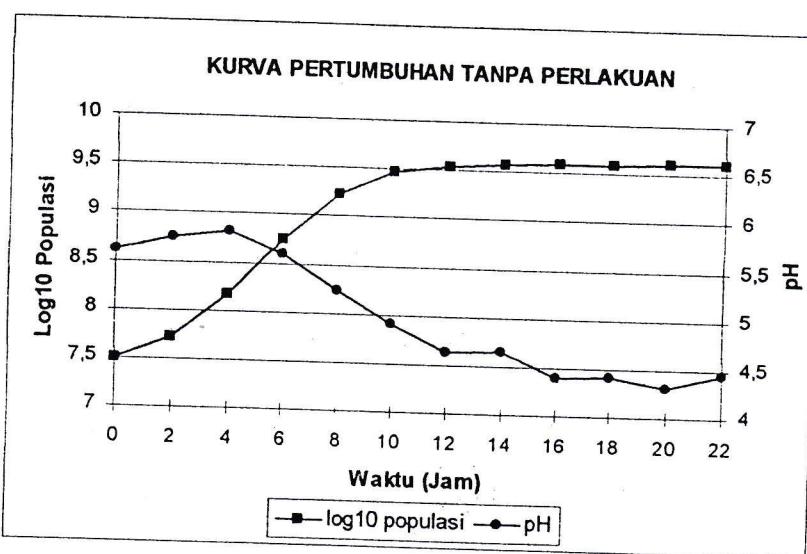


Gambar 3. Proses pembuatan sosis fermentasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan

Daur pertumbuhan *L.plantarum* dalam media tanpa perlakuan menunjukkan bahwa bakteri mengalami fase logaritmik saat memasuki jam kedua (Gambar 3). Waktu adaptasi yang diperlukan bagi bakteri tidak terlalu lama, karena media yang digunakan tidak terlalu berbeda dari media tumbuh sebelumnya (MRSA dan MRSB). Umumnya pembahasan kurva pertumbuhan lebih banyak ditekankan pada tingkat pertumbuhan atau waktu generasi.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *L.plantarum*

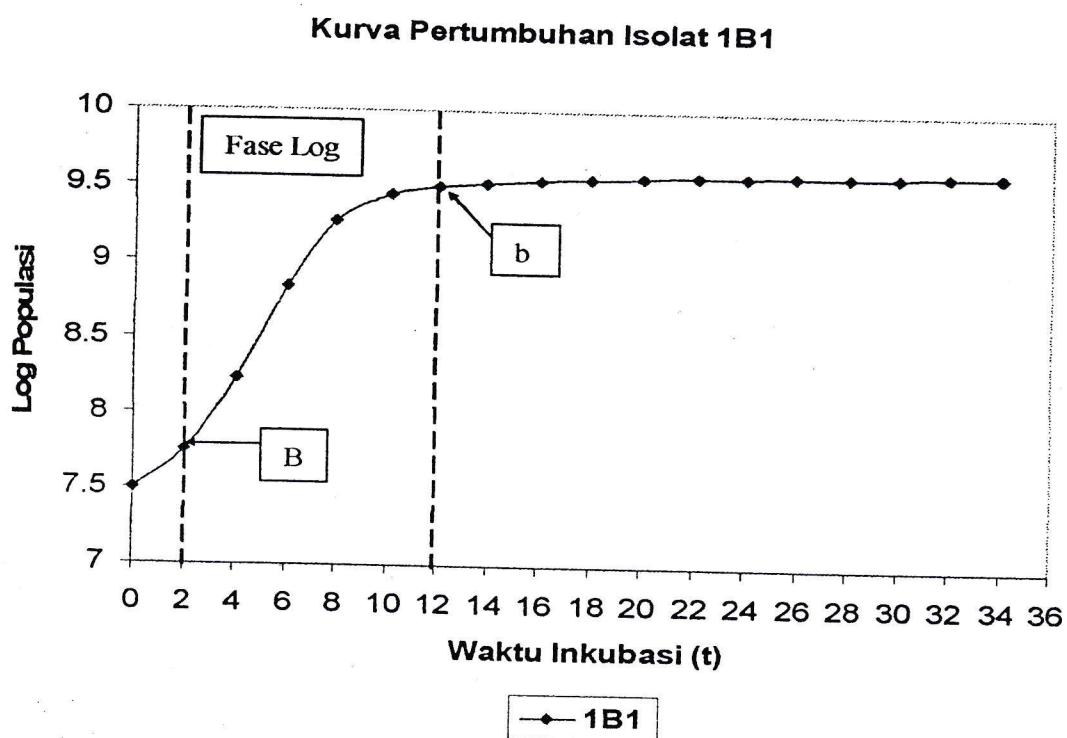
Fase logaritmik *L.plantarum* berlangsung selama \pm 6 jam. Selama fase ini, jumlah populasi meningkat dua kali lipat sejalan dengan terjadinya pembelahan biner. Waktu yang diperlukan 1B1 untuk membelah menjadi dua adalah 1 jam 5 menit.

Populasi awal kultur saat perhitungan adalah $3,2 \cdot 10^7$ cfu/ml, setelah 10 jam jumlah maksimal populasi mencapai $4,2 \cdot 10^9$ cfu/ml. Tanpa adanya perlakuan pH dan NaCl, waktu panen *L.plantarum* untuk dijadikan starter kultur adalah 10-12 jam inkubasi

Perlakuan dengan mempengaruhi kadar pH dan salinitas media selain untuk mengetahui karakter 1B1 juga ditujukan untuk mengetahui viabilitas bakteri jika diterapkan sebagai kultur starter sosis fermentasi. pH yang dipilih yaitu 5, 6 dan 6,5.

pH 6,5 adalah pH daging DFD, pH 5,8-6,0 adalah pH daging normal dan. pH 5 adalah pH daging PSE. Kisaran pH ini menentukan daging yang akan dipakai pada fermentasi daging. Informasi pertumbuhan starter pada kisaran pH tersebut mungkin akan diperlukan.

Lampiran 1. Kurva Pertumbuhan dan Waktu Generasi Isolat *Lactobacillus sp.*



Rumus Penghitungan Waktu Generasi

$$G = \frac{t_2 - t_1}{3,3 \log b/B}$$

ket :	G	=	Waktu Generasi
	$t_2 - t_1$	=	Selang pengukuran antara dua pengukuran populasi yang diambil pada fase eksponensial dari fase pertumbuhan
b	=	Populasi pada saat t2	
B	=	Populasi pada saat t1	

Parameter	Waktu Inkubasi		$\Delta t = t_{12} - t_2$	b/B	3,3 Log b/B
	t_{12} (b)	t_2 (B)			
Populasi	$3,20 \times 10^9$	$5,69 \times 10^7$	3147520365	56.2962963	5.776583418
Waktu	12 jam	2 jam	10 jam		

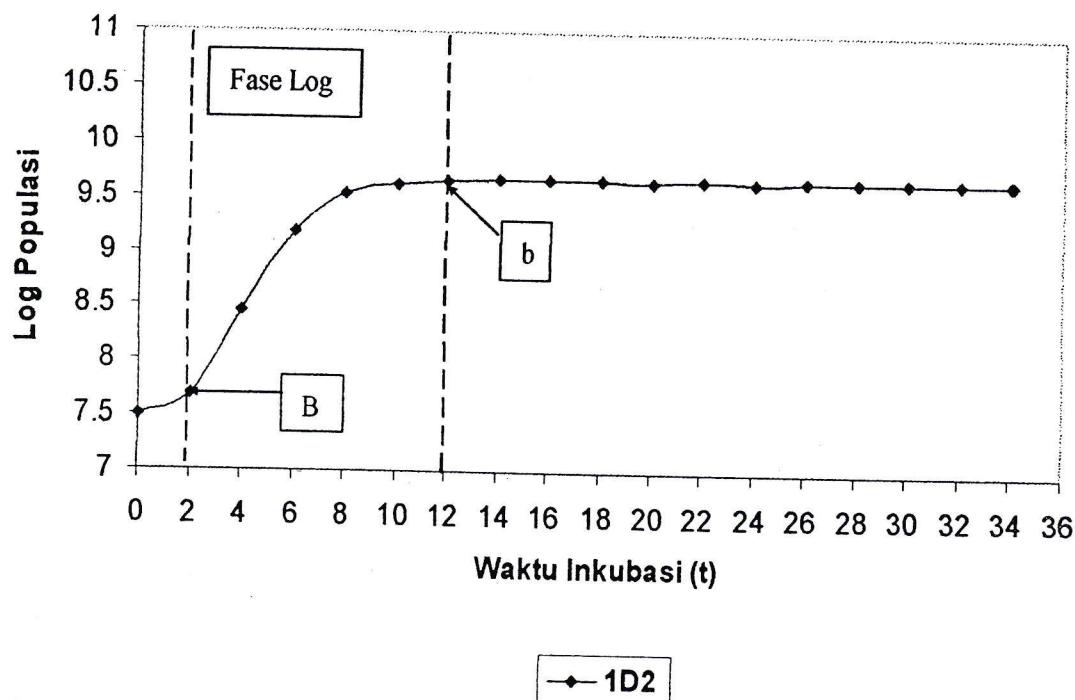
$$G = \frac{t_2 - t_1}{3,3 \log b/B}$$

$$G = \frac{10 \text{ Jam}}{5,78}$$

$$G = 1,73 \text{ jam}$$

G = 1 jam 43 menit 48 detik

Kurva Pertumbuhan Isolat 1D2



Penghitungan Waktu Generasi

Parameter	Waktu Inkubasi		$\Delta t = t_{12} - t_2$	b/B	$3,3 \log b/B$
	$t_{12} (b)$	$t_2 (B)$			
Populasi	$4,41 \times 10^9$	$3,16 \times 10^7$	$4,36 \times 10^9$	88,1	6,417649722
Waktu	12 jam	2 jam	10jam		

$$G = \frac{t_2 - t_1}{3,3 \log b/B}$$

$$G = \frac{10 \text{ Jam}}{6,42}$$

$$G = 1,56 \text{ jam}$$

G = 1 jam 33 menit 36 detik

PENENTUAN STARTER KULTUR SOSIS FERMENTASI

Viabilitas kultur cair *L.plantarum* dan *L.fermentum* mampu mencapai log 9 cfu/ml, sedangkan setelah dilakukan pengeringan beku terjadi peningkatan sebanyak 2 log yaitu mencapai log 11 cfu/gr. Peningkatan ini disebabkan karena kadar air kultur berkurang sehingga terjadi konsentrasi massa sel bakteri. Data viabilitas kultur kering dapat dilihat pada Tabel di bawah ini

Tabel Viabilitas Kultur Cair

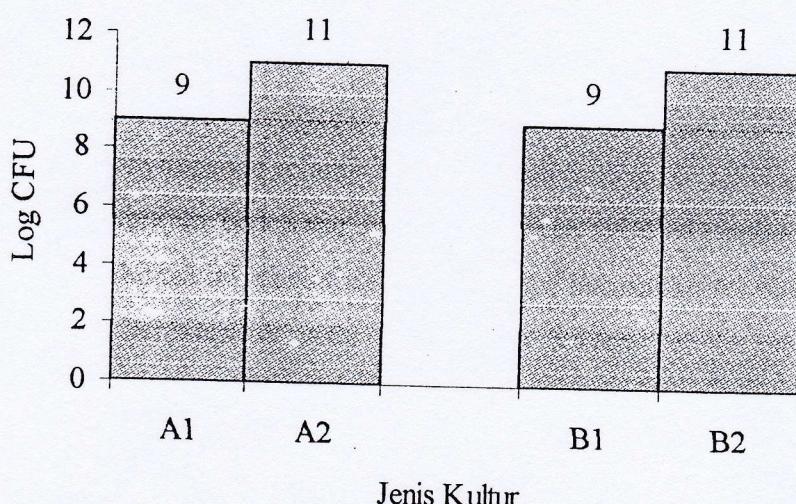
Jenis BAL	U1	U2	U3	Rata-rata
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.8×10^9	1.95×10^{10}	5×10^8	7.3×10^9
<i>Lactobacillus fermentum</i>	1.95×10^8	3.5×10^9	4.2×10^8	1.4×10^9

Viabilitas Kultur Kering H-0 (sebelum penyimpanan)

Jenis BAL	U1	U2	U3	Rata-rata
<i>Lactobacillus plantarum</i>	3.35×10^{11}	1.64×10^{12}	6.55×10^{11}	8.8×10^{11}
<i>Lactobacillus fermentum</i>	1.57×10^{12}	3.7×10^{11}	5.2×10^{11}	8.2×10^{11}

Catatan : kadar air kultur kering *L.plantarum* = 5%

Kadar air kultur kering *L.fermentum* = 20%



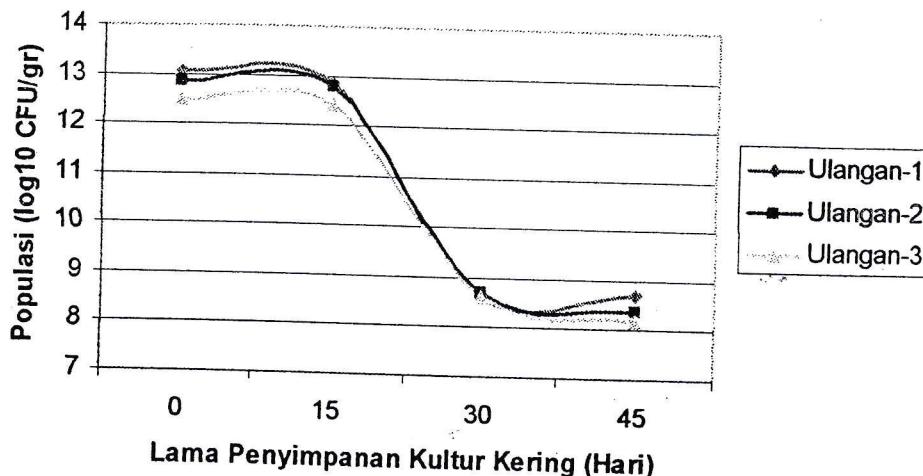
Keterangan :

- A1 = Kultur Cair *L. plantarum*
- A2 = Kultur Kering *L. plantarum*
- B1 = Kultur Cair *L. fermentum*
- B2 = Kultur Kering *L. fermentum*

Menurut Tamim dan Robinson, syarat kultur kering adalah mempunyai kadar air 5-8%. Dengan lama pengeringan beku yang sama yaitu 60 jam, kultur kering *L.plantarum* mempunyai kadar air 5%, sedangkan kultur kering *L.fermentum* tidak dapat mencapai kadar air 5%, hanya sampai pada 20%. Selain itu, *L.plantarum* juga telah diujicobakan mampu beradaptasi pada media yang sesuai dengan kondisi sosis fermentasi, sehingga walaupun viabilitas akhirnya tidak berbeda nyata, namun yang dipilih sebagai starter kultur sosis fermentasi adalah kultur kering *L.plantarum*. Selanjutnya starter kultur kering *L.plantarum* dikemas dalam plastik dan diseal dan disimpan dalam refrigerator suhu 100C selama 45 hari. Pada penyimpanan hari ke-15, ke-30 dan 45 diluji viabilitasnya sebelum digunakan sebagai kultur kering dalam pembuatan sosis fermentasi.

Viabilitas Kultur Kering

Rataan viabilitas kultur kering sebelum disimpan (kontrol) adalah sebesar $7,08 \times 10^{12}$ CFU/gr. Setelah penyimpanan selama 15 hari, kultur kering *L. plantarum* tidak mengalami penurunan yang signifikan ($P>0,05$). Rataan viabilitas kultur kering *L. plantarum* setelah perlakuan penyimpanan 15 hari adalah sebesar $5,33 \times 10^{12}$ CFU/gr. Bucio *et al.* (2005) menyatakan bahwa viabilitas *L. plantarum* pada pakan ikan kering dapat bertahan selama tiga minggu pada suhu 25°C, namun penyimpanan pada suhu refrigerator dengan kemasan vakum dapat mempertahankan viabilitas kultur hingga satu tahun penyimpanan. Jumlah rataan viabilitas kultur kering *L. plantarum* setelah penyimpanan selama 30 hari adalah $5,05 \times 10^7$ CFU/gr. Viabilitas kultur kering *L. plantarum* berkurang secara signifikan ($P<0,01$) yaitu sebanyak 4 log₁₀. Penurunan viabilitas ini menunjukkan terjadinya kerusakan sel bakteri selama penyimpanan yang berpengaruh pada daya hidup bakteri setelah penyimpanan. Sedangkan, jumlah rataan viabilitas kultur kering *L. plantarum* setelah penyimpanan selama 45 hari adalah $3,33 \times 10^7$ CFU/gr. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi penurunan yang signifikan ($P>0,05$) selama penyimpanan dari hari ke-30 hingga hari ke-45 masa penyimpanan. Grafik viabilitas kultur kering *L. plantarum* selama penyimpanan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Viabilitas Kultur Kering *L. plantarum* Selama Penyimpanan

Kualitas Mikrobiologis Sosis Fermentasi

Kualitas mikrobiologis sosis fermentasi secara keseluruhan mengalami perubahan sesuai dengan perlakuan penyimpanan kultur kering *L. plantarum* selama 45 hari. Hasil analisis mikrobiologis sosis fermentasi menggunakan kultur starter kering *L. plantarum* selama penyimpanan selama 45 hari dapat dilihat pada Tabel 2.

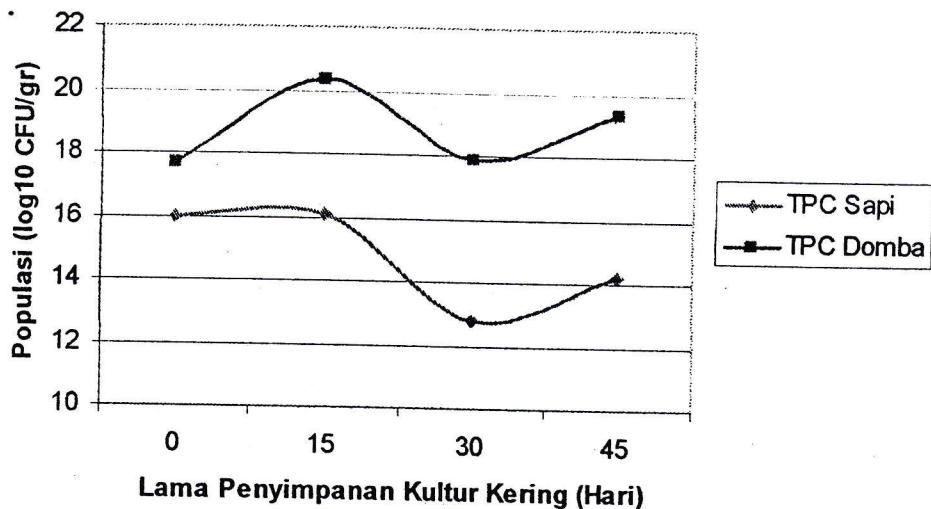
Tabel 2. Hasil Analisis Mikrobiologis Sosis Fermentasi

Parameter	Perlakuan							
	Kultur H-0		Kultur H-15		Kultur H-30		Kultur H-45	
	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba
----- CFU/gr -----								
Total bakteri	$9,60 \times 10^{15}$	$5,08 \times 10^{17}$	$1,27 \times 10^{16}$	$2,26 \times 10^{20}$	$6,00 \times 10^{12}$	$7,87 \times 10^{17}$	$1,65 \times 10^{14}$	$2,21 \times 10^{19}$
BAL	$1,35 \times 10^{11}$	$7,02 \times 10^{10}$	$7,59 \times 10^{12}$	$1,59 \times 10^{11}$	$1,60 \times 10^{07}$	$9,42 \times 10^{07}$	$1,44 \times 10^{08}$	$2,54 \times 10^{06}$
<i>S. aureus</i>	$1,67 \times 10^{05}$	$3,02 \times 10^{04}$	$1,83 \times 10^{04}$	$3,38 \times 10^{04}$	$1,62 \times 10^{04}$	$9,57 \times 10^{05}$	$1,37 \times 10^{05}$	$2,12 \times 10^{05}$
Coliform	$<0,03 \times 10^{02}$	$<0,03 \times 10^{02}$	$0,93 \times 10^{02}$	$0,93 \times 10^{02}$	$<0,03 \times 10^{02}$	$<0,03 \times 10^{02}$	$2,40 \times 10^{02}$	$0,09 \times 10^{02}$
Salmonella	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Total Bakteri

Total bakteri pada sosis fermentasi dengan lama penyimpanan yang berbeda mengalami kenaikan pada lama penyimpanan kultur pada hari ke 15. Setelah itu terjadi penurunan tetapi kemudian meningkat kembali pada hari ke 45. Pola

pertumbuhan total bakteri terutama bakteri pada sosis fermentasi hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Populasi Total Bakteri Sosis Fermentasi

Total bakteri sosis fermentasi selama 45 hari mengalami perbedaan yang sangat nyata ($P<0,01$). Total bakteri merupakan jumlah total seluruh bakteri yang terkandung di dalam sosis fermentasi. Rataan total bakteri sosis fermentasi daging sapi dan domba selama 45 hari adalah $5,62 \times 10^{15}$ CFU/gr dan $6,23 \times 10^{19}$ CFU/gr. Jumlah ini dipengaruhi secara nyata ($P<0,01$) oleh perlakuan penyimpanan kultur, penggunaan jenis daging dan interaksi antara perlakuan penyimpanan kultur dan penggunaan daging. Total bakteri baik pada sosis fermentasi daging sapi maupun daging domba meningkat pada penyimpanan kultur selama 15 hari, menurun pada penyimpanan kultur selama 30 hari dan meningkat kembali pada penyimpanan kultur selama 45 hari.

Bakteri yang dominan terdapat dalam sosis fermentasi adalah bakteri asam laktat sehingga jumlah total bakteri juga didominasi oleh bakteri asam laktat yang digunakan sebagai kultur starter. Jenis bakteri lain seperti bakteri pembusuk, patogen maupun kapang dan khamir umumnya tidak mencapai jumlah yang cukup besar untuk mempengaruhi jumlah bakteri secara keseluruhan.

Total bakteri menunjukkan total populasi bakteri yang terkandung pada suatu produk. Perbedaan jumlah total bakteri pada sosis fermentasi sangat dipengaruhi oleh

kemampuan hidup bakteri itu sendiri dan kondisi lingkungannya. Bahan-bahan lain yang ditambahkan seperti garam, gula dan bawang putih juga mempengaruhi kemampuan hidup bakteri didalam sosis fermentasi. Bumbu-bumbu ini memiliki antimikroba yang dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri. Garam pada konsentrasi 0,5-1 % dapat meningkatkan tekanan osmotik medium yang mengakibatkan penurunnya aktivitas air sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan *allicin* didalam bawang putih juga dapat mengurangi total bakteri didalam produk. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak bawang putih memiliki aktifitas antimikroba dengan spektrum yang luas dalam menghambat bakteri Gram-negatif dan Gram-positif, termasuk *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus* and *Clostridium* (Koch dan Lawson, 1996). Faktor lain yang menghambat pertumbuhan bakteri selain a_w dan kadar air adalah pH. Kondisi asam menjadi titik kritis untuk pertumbuhan bakteri tertentu seperti beberapa bakteri Gram negatif (Leroy dan Vuyst, 1999).

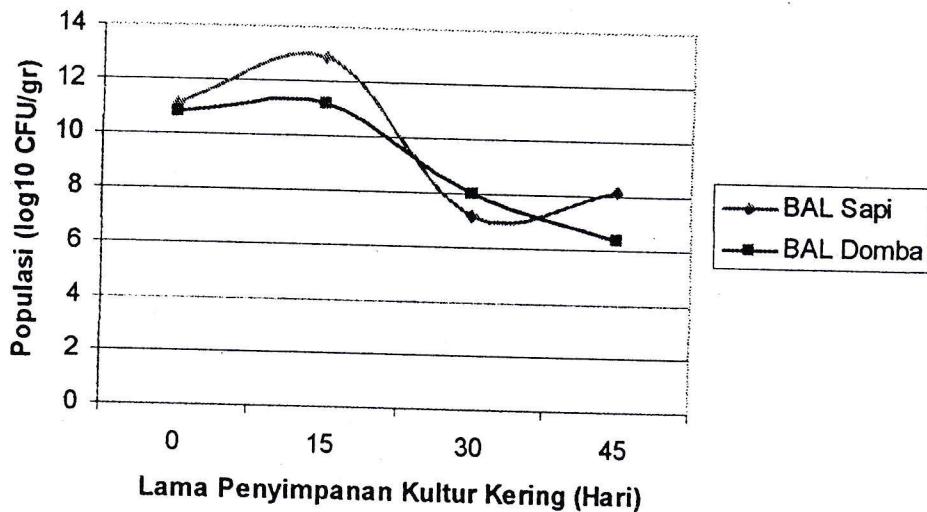
Total Bakteri Asam Laktat

Jumlah bakteri asam laktat sosis fermentasi daging sapi mengalami kenaikan yang signifikan ($P<0,01$) dari sosis dengan kultur tanpa penyimpanan (kontrol) ke sosis dengan kultur penyimpanan 15 hari. Namun, jumlahnya mengalami penurunan yang signifikan ($P<0,01$) pada sosis dengan penyimpanan kultur 30 hari dan tidak memiliki jumlah yang berbeda ($P>0,05$) pada sosis dengan penyimpanan kultur selama 45 hari.

Pada sosis fermentasi daging domba, jumlah bakteri asam laktat tidak mengalami penurunan yang berarti ($P>0,05$) selama 15 hari penyimpanan. Penurunan yang signifikan ($P<0,01$) terjadi pada sosis dengan kultur yang disimpan selama 30 hari dan tidak berubah signifikan ($P>0,05$) pada sosis dengan penyimpanan kultur selama 45 hari.

Perlakuan penyimpanan kultur mempengaruhi ($P<0,01$) total bakteri asam laktat pada sosis fermentasi, sedangkan penggunaan daging sebagai bahan adonan sosis tidak mempengaruhi ($P>0,05$) total bakteri asam laktat di dalam sosis. Interaksi keduanya turut mempengaruhi ($P=0,01$) total bakteri asam laktat. Rataan total bakteri asam laktat di dalam sosis fermentasi daging sapi dan daging domba adalah $1,93 \times 10^{12}$ CFU/g dan $5,73 \times 10^{10}$ CFU/gr. Jumlah populasi bakteri asam laktat yang lebih

besar pada sosis fermentasi daging sapi kemungkinan disebabkan oleh kultur yang digunakan diisolasi dari daging sapi sehingga lebih mudah beradaptasi pada jenis daging tersebut. Grafik populasi bakteri asam laktat sosis fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.

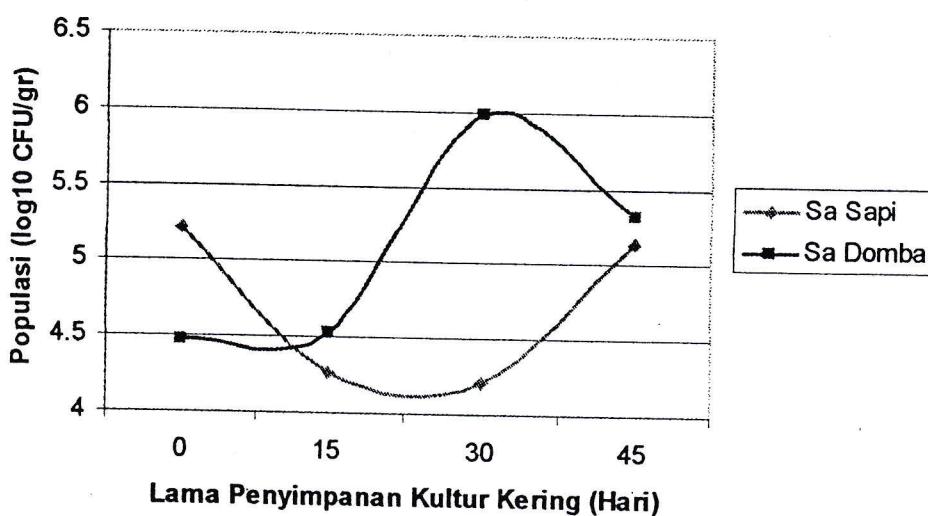


Gambar 3. Grafik Populasi Bakteri Asam Laktat Sosis Fermentasi *Staphylococcus aureus*

Total *S. aureus* pada sosis fermentasi daging sapi mengalami penurunan hingga penyimpanan kultur selama 30 hari, namun mengalami kenaikan pada penyimpanan kultur selama 45 hari. Sedangkan total *S. aureus* pada sosis fermentasi daging domba mengalami kenaikan mulai penyimpanan kultur selama 15 hari hingga penyimpanan selama 45 hari. Total *S. aureus* di dalam sosis fermentasi dipengaruhi ($P<0,01$) baik oleh kultur perlakuan penyimpanan kultur maupun penggunaan jenis daging. Selain itu total *S. aureus* juga dipengaruhi oleh adanya interaksi ($P=0,01$) antara penyimpanan kultur dan penggunaan daging. Rataan total *S. aureus* sosis fermentasi daging sapi dan domba secara berurutan adalah $8,45 \times 10^4$ CFU/gr dan $3,08 \times 10^5$ CFU/gr.

Perbedaan total *S. aureus* pada sosis fermentasi ini dipengaruhi oleh aktifitas dari kultur starter yang telah mengalami penyimpanan. Faktor lain yang mempengaruhi total *S. aureus* adalah proses fermentasi, pengasapan dan pengeringan sosis. Menurut Wendorf (1981) dalam Shahidi (1998), aktivitas bakteriostatik dan

fungistatik dari aroma asap yang dihasilkan selama proses pengasapan ternyata dapat menekan jumlah bakteri patogen seperti *E. coli*, *Staphylococcus* dan *Pseudomonas* yang terdapat dalam makanan. Asam alifatik dan komponen fenol asap berkontribusi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen maupun kapang. Grafik populasi total *S. aureus* sosis fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.

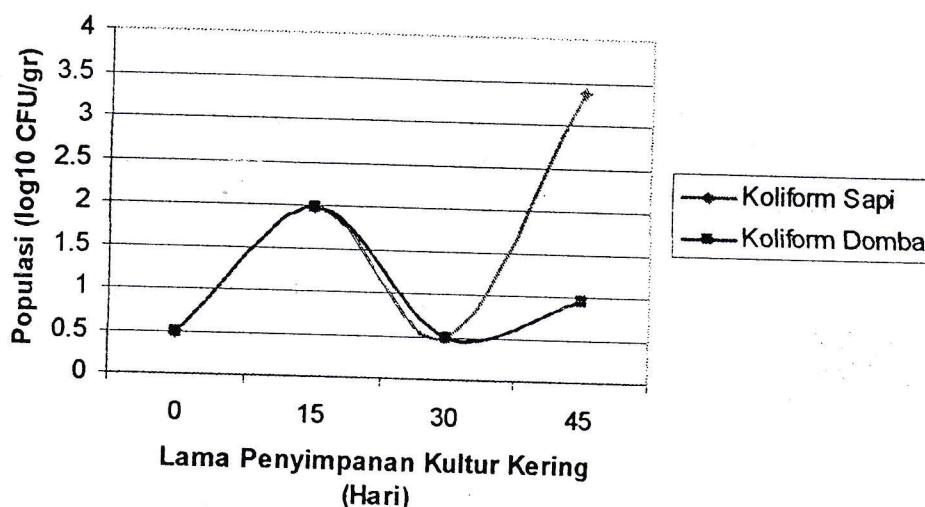


Gambar 4. Grafik Populasi Total *S. aureus* Sosis Fermentasi

Penghambatan terhadap *Staphylococcus* disebabkan karena adanya senyawa antimikroba yang diproduksi oleh bakteri asam laktat tertentu. *Lactobacillus plantarum* menghasilkan senyawa antimikroba lactolin yang ternyata dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Davidson dan Hoover, 1993). Senyawa antimikroba lain yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Leroy dan Vuyst, 1999). Kondisi asam juga mempengaruhi penghambatan terhadap *Staphylococcus*. Penurunan pH sosis sampai pH 5,3 sudah cukup dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus* dan juga menghambat pembentukan enterotoksin (The American Meat Institute Foundation, 1997). Selain dengan konsentrasi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, suhu fermentasi juga mempengaruhi dalam penghambatan *Staphylococcus*. Suhu fermentasi yang tinggi yaitu 38,9°C akan meningkatkan jumlah *Staphylococcus*. Oleh karena itu pada penelitian ini, suhu fermentasi yang digunakan adalah suhu ruang (26-27°C).

Koliform

Lama penyimpanan kultur tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap jumlah koliform sampai 45 hari penyimpanan. Hal ini terjadi karena bakteri asam laktat mengandung antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Vuyst dan Vandamme (1994) menyatakan bahwa sinergis asam-asam organik tertentu misalnya asam asetat dan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Salmonella*. Menurut Fardiaz (1992) kisaran suhu pertumbuhan optimum *E. coli* adalah 37°C dengan pH 7,0-7,5. Kisaran pH pada sosis fermentasi daging sapi dan domba yang dihasilkan yaitu 4,1-4,7, sehingga menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan *E. coli* pada produk. Grafik populasi koliform dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Populasi Koliform Sosis Fermentasi

Bakteri asam laktat spesies *L. plantarum* dapat menghasilkan senyawa antimikroba hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida berfungsi untuk menurunkan permeabilitas molekul struktur dari *E. coli* melalui mekanisme laktoperoksidase dan thiosianat, hidrogen peroksidase dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. Coli*, *Salmonella* dan *Staphylococcus* (Jenie dan Rini, 1995).

Salmonella

Salmonella termasuk ke dalam bakteri patogen dan berbahaya. *Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif dan memiliki flagella peritrikat

(Fardiaz, 1989). Bakteri ini memproduksi asam hasil fermentasi dan H_2S , tumbuh optimum pada suhu 37°C dengan pH 4-9 dan a_w minimum 0,95 (Varnam dan Sutherland, 1995).

Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa di dalam sosis fermentasi baik daging sapi maupun daging domba tidak mengandung *Salmonella*. Aktivitas bakteri asam laktat di dalam sosis yang masih baik dapat menghasilkan senyawa organik, bakteriosin dan antimikroba yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen, misalnya H_2O_2 yang dihasilkan *L. plantarum* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella* (Jenie dan Rini, 1995). Kandungan a_w pada sosis fermentasi baik daging sapi maupun domba yang berkisar pada 0,88, menyebabkan terhambatnya pertumbuhan *Salmonella*. Hal ini disebabkan *Salmonella* memiliki a_w optimum sekitar 0,91-0,95 (Fontana, 1998).

Kualitas Kimia Sosis Fermentasi

Hasil analisis kimia sosis fermentasi menggunakan kultur starter kering *L. plantarum* dengan penyimpanan selama 45 hari disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Kimia Sosis Fermentasi

Parameter	Perlakuan							
	Kultur H-0		Kultur H-15		Kultur H-30		Kultur H-45	
	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba
Kadar air (%)	43,84	47,99	42,23	35,95	45,96	40,28	45,07	37,05
Kadar abu (% bk)	4,78	4,41	4,93	4,45	6,66	4,00	3,80	4,16
Kadar lemak (% bk)	40,39	29,59	39,55	37,86	36,06	42,87	39,13	56,26
Kadar protein (% bk)	40,53	42,27	38,94	34,75	45,20	40,81	41,9	30,93
pH	4,32	4,15	4,54	4,47	4,495	4,4	4,797	4,38
a_w	0,887	0,8825	0,884	0,871	0,899	0,8875	0,893	0,897

Kadar Air

Perlakuan penyimpanan memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata ($P<0,01$) terhadap kultur dan daging yang terjadi interaksi antara keduanya. Buckle *et al.*, (1987), menyatakan bahwa air diperlukan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berfungsi secara normal. Penurunan kadar air juga disebabkan oleh ditambahkannya garam pada adonan sosis. Garam akan menyababkan terjadinya penarikan air dari serat daging secara osmosis, air yang telah tertarik tersebut

menjadi bebas dan menyebabkan mudah menguap (Buege, 2001). Metabolisme aerobik yang terjadi selama proses fermentasi akan menghasilkan CO_2 dan H_2O yang akan mempengaruhi kandungan air pada produk fermentasi.

Kadar Abu

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antara kultur dengan daging memberikan pengaruh yang nyata ($P<0,05$) pada sosis yang dihasilkan. Kemampuan bakteri asam laktat untuk mereduksi nitrit dapat menyebabkan kadar abu mengalami penurunan dalam produk fermentasi. Peningkatan mineral biasanya terjadi pada komponen magnesium, natrium dan kalium (Segarra *et al.*, 2000).

Kadar Lemak

Kadar lemak pada *salami* memiliki perbedaan sangat nyata pada kultur namun tidak berbeda pada daging dan antara kultur dan daging namun terjadi interaksi antara keduanya ($P<0,01$). Kadar lemak tersebut dipengaruhi oleh fosfolipid yang terkandung dalam daging, total lipid dalam otot menurun dari 5% menjadi sekitar 1% (Galgano, 2003). Mikroorganisme memiliki komponen sel yang mengandung lemak seperti glikolipid dan fosfolipid sehingga dapat menambah kandungan lemak dalam sosis fermentasi dalam analisis.

Kadar Protein

Protein pada *salami* yang dihasilkan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($P<0,05$) antara kultur kering dan daging, namun keduanya tidak memiliki interaksi. Sebagian asam amino pada daging resisten terhadap efek dari pemasakan, namun bagaimanapun juga asam amino seperti lysine, methionin dan tryptophan mengalami sedikit penurunan. Metode pendinginan dengan cepat pada daging segar dan daging olahan tidak mengubah nilai biologis protein secara signifikan (Galgano, 2003).

pH

Sosis fermentasi yang dihasilkan memiliki nilai pH yang sangat berbeda nyata ($P<0,01$) untuk lama penyimpanan kultur dan daging yang digunakan. Selain itu terbentuk interaksi antara lama penyimpanan kultur dengan jenis daging. Hal ini berarti lama penyimpanan kultur dengan jenis daging yang digunakan berpengaruh terhadap pH yang dihasilkan.

Penurunan pH akibat akumulasi asam laktat memiliki peranan penting dalam pengawetan *salami*, karena dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri patogen. Jumlah asam laktat yang terbentuk dipengaruhi oleh jumlah karbohidrat yang tersedia, semakin tinggi jumlah karbohidrat maka makin banyak asam laktat yang terbentuk. Asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH lingkungannya sehingga menimbulkan rasa asam.

Mukherjee *et al.*, (2006) menuliskan bahwa pH akhir dari sosis fermentasi berkisar 4,3 sampai 4,5 dengan suhu fermentasi 25-30°C. Selama proses fermentasi 24 jam pH menurun dengan drastis dari 6,3 sampai 4,5 hal ini terjadi karena produksi asam laktat yang tinggi hasil aktifitas bakteri asam laktat.

a_w

Salami yang dihasilkan tidak menunjukkan adanya interaksi pada kultur dan daging yang digunakan($P>0,05$). Nilai a_w suatu bahan pangan akan mencapai keseimbangan dengan kelembapan udara relatif (RH) dari sekitar bahan pangan tersebut. Air yang bebas dapat dengan mudah menguap dan dimanfaatkan oleh mikroba untuk tumbuh. Penambahan gula dan garam nitrit juga dapat menurunkan aktifitas air karena gula dan garam nitrit dapat mengikat air, hal ini serupa dengan Buege (2001) yang menyatakan bahwa garam dapat menyebabkan terjadinya penarikan air dari urat daging secara osmosis.

Aktifitas air mempengaruhi kualitas fisik seperti *juicy*, keempukan, dan kekenyalan. Selain itu aktifitas air juga mempengaruhi tekstur produk menjadi keras, lunak atau kering (Fontana, 1998).

Organoleptik

Hasil uji organoleptik tingkat kesukaan panelis terhadap sosis fermentasi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik Tingkat Kesukaan Panelis terhadap Sosis Fermentasi

Parameter	Perlakuan								Rataan	
	Kultur H-0		Kultur H-15		Kultur H-30		Kultur H-45			
	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba		
Penampakan umum	4	2	3	2	2	3	4	4	3	
Warna	4	2	4	2	2	2	2	4	2,75	
Aroma	2	2	3	2	2	3	4	2	2,5	

Parameter	Perlakuan								Rataan	
	Kultur H-0		Kultur H-15		Kultur H-30		Kultur H-45			
	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba	Sapi	Domba		
Tekstur	2	2	3	2	2	2	2	2	2,125	
Rasa	4	4	4	4	2	2	2	2	3	
Rataan	3,2	2,4	3,4	2,4	2	2,4	2,8	2,8	2,675	

Keterangan :

1. = Sangat suka
2. = Suka
3. = Netral
4. = Tidak suka
5. = Sangat tidak suka

Uji organoleptik dilakukan pada sosis fermentasi dengan tujuan untuk mengetahui sejauh mana tingkat kesukaan panelis terhadap suatu produk yang akan dipasarkan. Oleh karena itu dipilih uji hedonik. Uji hedonik ini menggunakan 50 panelis tidak terlatih.

Tingkat kesukaan panelis terhadap sosis fermentasi secara keseluruhan adalah suka. Berdasarkan penampakan umum secara keseluruhan panelis memberikan nilai netral. Sosis yang paling disukai adalah sosis yang diberikan kultur starter dengan lama penyimpanan 30 hari. Sosis fermentasi yang diberikan kultur starter dengan lama penyimpanan 45 hari tidak disukai secara penampakan umum. Panelis memberikan nilai yang mendekati agak suka sampai netral untuk warna. Rendahnya penilaian panelis terhadap warna sosis karena warna yang dihasilkan agak coklat kehitaman terutama pada bagian permukaan sosis. Begitupun dengan tingkat kesukaan terhadap aroma panelis memberikan nilai agak suka mendekati netral. Faktor yang mempengaruhi aroma adalah asam laktat, rempah dan bumbu serta komponen volatil lain yang dihasilkan selama proses fermentasi. Tekstur yang dihasilkan dari sosis fermentasi ini disukai oleh panelis. Hal ini karena tekstur yang dihasilkan tidak terlalu keras, tidak lembek dan cukup kering. Tingkat kesukaan panelis terhadap rasa secara keseluruhan adalah netral. Sosis fermentasi yang diberikan kultur starter dengan tanpa masa simpan dan penyimpanan selama 15 hari panelis memberikan nilai tidak suka. Hal ini disebabkan karena rasa asam yang dihasilkan terasa sangat tajam sehingga panelis kurang menyukai.

KESIMPULAN

Lactobacillus plantarum yang dikeringkan dengan metode *freeze drying* mengalami peningkatan viabilitas. Viabilitas kultur kering *Lactobacillus plantarum* bertahan baik sampai masa penyimpanan 15 hari, kemudian mengalami penurunan yang signifikan pada penyimpanan 30 dan 45 hari. Kualitas mikrobiologis di dalam sosis fermentasi dapat dipertahankan sampai diberi kultur 30 hari. Sosis yang diberi kultur dengan lama penyimpanan 45 hari kualitas mikrobiologisnya kurang baik. Hal ini terlihat pada jumlah *E.coli* dan *Staphylococcus* dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan sosis lainnya.

Nilai a_w dan pH tidak mengalami perubahan yang signifikan di dalam sosis walaupun kultur yang diberikan telah disimpan selama 45 hari. Nilai a_w di dalam sosis fermentasi ini berkisar dari 0,87-0,89. Nilai ini memberikan peluang untuk mikroorganisme seperti *Micrococcus*, beberapa jenis kapang dan *Staphylococcus aureus* untuk tumbuh. Nilai pH sosis yang dihasilkan berkisar 4,1-4,7. Nilai yang diperoleh ini menyebabkan penghambatan terhadap bakteri patogen seperti *E. coli*, *Salmonella* dan *Staphylococcus*. Hasil yang diperoleh berdasarkan analisis proksimat memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan untuk semua produk sosis fermentasi yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Studi ini didukung secara finansial oleh Program Hibah Kompetisi A2 2006, DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Abustam, E. 2000. Pengolahan dan Pengawetan Daging. Kerjasama Peternakan Universitas Hasanuddin dengan Bagian Proyek Peningkatan Kualitas SDM Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Makassar.
- Anonimous. 2005. Microbiology – Shelf stable dried meats. http://www.fsis.usda.gov/PDF/FSRE_SS_5MicrobiologyDried.pdf. [22 Mei 2007].
- APHA (American Public Health Association). 1992. Standard Methods for The Examination of Dairy Products. 16th Edition. Port City Press, Washington DC.
- Arief, I.I. 2000. Pengaruh aplikasi kultur kering dengan beberapa kombinasi mikroba terhadap kualitas fisiko-kimia dan mikrobiologi sosis fermentasi. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Bryant, T. 2005. Probabilistic Identification of Bacteria. <http://som.soton.ac.uk>. [18 Maret 2006].
- Bucio, A., R. Hartemink, J. W. Schrama, J. Verreth, dan F. M. Rombouts. 2005. Survival of *Lactobacillus plantarum* 44a after spraying and drying in feed and during exposure to gastrointestinal tract fluids in vitro. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **51**, Hal. 221–227.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, dan M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Terjemahan : H. Purnomo dan Adiono. UI Press, Jakarta.
- Davidson, P. M. dan D. G. Hoover. 1993. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. **Dalam** : Lactic Acid Bacteria. S. dan A. Wright. Marcel Dekker, New York.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fontana, 1998. Water Activity: Why it is Important for Food Safety. International Conference on Food Safety, November 16-18, Albuquerque, NM.
- Hadioetomo, R. S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. PT. Gramedia, Jakarta.
- Haines, W. C., and L. G. Harmon. 1973. Effect of selected lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxin production. *Appl. Microbiol.* Vol. 25, Hal. 436-441.

- Hidayati, N. 2006. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Lactobacillus plantarum* asal daging sapi dan aplikasinya pada kondisi pembuatan sosis fermentasi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hui, Y.H., W.K. Nip, R.W. Rogers, dan O.A. Young. 2001. Meat Science and Application. Marcel Dekker Inc. New York, USA.
- Koch, HP dan L. D. Lawson. 1996. Garlic, the science and therapeutic application of *Allium sativum L.* and related species. Dalam : Retford DC, Williams dan Wilkins, Baltimore, Hal. 1-233.
- Lawrie, R.A. 1998. Meat Science. 6th Edition. Terjemahan : A. Parakasi dan Yudha A. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Leroy, F dan L. D. Vuyst. 1999. Temperature and pH conditions that prevail during fermentation of sausages are optimal for production of the antilisterial bacteriocin Sakacin K. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 65, No. 3, Hal. 974-981.
- Metaxopoulos, J., C. Genigeorgis, M. J. Fanelli, C. Franti, and E. Cosma. 1981. Production of Italian dry salami. I. Initiation of staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. J. Food Protect. Vol. 44. Hal. 347-352.
- Price, J.F. dan B.S. Schweigert. 1986. The Science of Meat and Meat Products. 3rd Edition. Food Nutrition Press, Connecticut.
- Rahman, A. 1989. Teknologi Fermentasi. Penerbit Arcan, Jakarta.
- Samelis, J. Dan J. N. Sofos. 2003. Yeast in meat and meat products. Dalam : T. Boekhout and V. Roberts. Yeast in Food. CRC Press, Washington DC.
- Segarra, P. J. S., M.G. Martinez, M.J.G. Otero, A.D. Valverde, M.A.A. Lopez, dan R.M. Rojas. 2000. Influence of adition of fruit on the mineral content of yoghurt nurtritional assesment. J. Food Chemistry. 71 (1) : 85-89.
- Shahidi, F. 1998. Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods. Blackie Academic and Professional, London.
- Soeparno. 1998. Ilmu dan Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- The American Meat Institute Foundation. 1997. Good Manufacturing Practice for Fermented Dry and Semi-Dry Sausage. <http://www.usda/fsis.gov>. [.....]
- Varnam, A. N. dan J. P. Sutherland. 1995. Meat and Meat Products. Chapman and Hall, London.

Vuyst, L.D. dan E. J. Vandamme. 1994. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria : Microbiology, Genetics and Application. Blackie Academic and Professional. London.

Winarno, F.G., S. Fardiaz,dan D. Fardiaz. 1984. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Garmedia, Jakarta.