

## Profil Penulis

### FENNY IMELDA, STP., M.Si



adalah staf pengajar di D4 - Pengolahan Hasil Perkebunan Terpadu Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak sejak tahun 2005. Pendidikan dari SD-SMP penulis diselesaikan di Pemangkat, dilanjutkan SMA di Pontianak. Pendidikan S1 Penulis dilanjutkan di Universitas Padjajaran Tahun 1997 pada Program Studi Teknologi Pangan dan Tahun 2011 melanjutkan S2 pada Prodi Ilmu Pangan di Institut Pertanian Bogor. Penulis aktif melakukan penelitian dan pengabdian di bidang pengolahan pangan dan pengujian khususnya untuk produk fermentasi dan fungsional. Mata Kuliah yang pernah di ampu oleh penulis adalah: Pengetahuan Bahan, Mikrobiologi Dasar dan Pengolahan, Statistika, Analisis Hasil Perkebunan, dan Uji Mikrobiologi.

### LEDY PURWANDANI, STP., M.Sc



adalah staf pengajar di D4 - Pengolahan Hasil Perkebunan Terpadu Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak sejak tahun 2003. Pendidikan dari SD - SMA penulis diselesaikan di Pontianak. Pendidikan S1 Penulis dilanjutkan di Universitas Gadjah Mada Tahun 1998 (Program Studi Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian) dan Tahun 2009 (S2 Ilmu dan Teknologi Pangan). Penulis mempunyai minat dibidang pengolahan pangan dan pengujian khususnya untuk produk fermentasi, probiotik dan prebiotik. Mata Kuliah yang pernah di ampu oleh penulis adalah Pengetahuan Bahan, Mikrobiologi Dasar dan Pengolahan, Analisis Hasil Perkebunan, dan Uji Mikrobiologi

### AHMAD MUSTANGIN, STP., M.Sc



adalah staf pengajar di D3 - Pengelolaan Hasil Perkebunan Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak. Penulis menempuh pendidikan tinggi dimulai pada jenjang D3 di Prodi TPHP Politeknik Negeri Pontianak Tahun 2011 dan melanjutkan S1 Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Mercu Buana Yogyakarta (2015-2016). Penulis melanjutkan program Pasca Sarjana Ilmu dan Teknologi Pangan di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada Tahun 2017. Penulis aktif melakukan riset di bidang Mikrobiologi sejak tahun 2014 untuk prebiotik, produk olahan pangan fermentasi dan probiotik. Matakuliah yang pernah penulis ampu adalah Mikrobiologi Pengolahan, Uji Mikrobiologi, Uji Sensoris, Analisis Hasil Perkebunan dan Pengantar Teknologi Pertanian.



PENERBIT POLITEKNIK NEGERI PONTIANAK

FENNY IMELDA, STP., M.Si dkk  
BUKU AJAR Uji MIKROBIOLOGI

BUKU AJAR

# UJI MIKROBIOLOGI



FENNY IMELDA, STP., M.Si  
LEDY PURWANDANI, STP., M.Sc  
AHMAD MUSTANGIN, STP., M.Sc

**BUKU AJAR**

**UJI MIKROBIOLOGI**



Disusun oleh:

**Fenny Imelda, STP., MSi.**

**Ledy Purwandani, STP., MSc.**

**Ahmad Mustangin, STP., MSc.**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN**  
**PENGOLAHAN HASIL PERKEBUNAN TERPADU**  
**JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN**  
**POLITEKNIK NEGERI PONTIANAK**  
**Tahun 2023**



## **Buku Ajar – Uji Mikrobiologi**

### **Penulis:**

Fenny Imelda, STP., MSi.

Ledy Purwandani, STP., MSc.

Ahmad Mustangin, STP., MSc.

### **Desain Sampul dan Tata Letak:**

Sandi Nurdin, STP., MSi.

Copyright © Penerbit Politeknik Negeri Pontianak, 2023

xi, 14,8 x 21,0 cm

Cetakan Pertama, Juni 2023

Diterbitkan oleh:

### **Penerbit Politeknik Negeri Pontianak**

Jalan Jenderal Ahmad Yani – Pontianak, 78124 Kalimantan Barat

Telepon:(0561)736180, Faksimile: (0561)740143, Kotak Pos 1286

[www.polnep.ac.id](http://www.polnep.ac.id)

Hak cipta dilindungi Undang-undang Republik Indonesia No. 19 Tahun 2002 tentang Hak Cipta Pasal 72

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga Buku Ajar ini terselesaikan. Pembuatan buku ini dimaksudkan agar dosen di Program Studi Sarjana Terapan Pengolahan Hasil Perkebunan Terpadu, Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak, dalam proses pembelajaran memiliki acuan yang baku sesuai RPS dan RPP yang disepakati oleh Kaprodi dan dosen-dosen. Selain itu, adanya buku ajar ini diharapkan capaian pembelajaran mahasiswa melalui sumber belajar yang berkualitas dapat dipertanggungjawabkan secara akademik maupun dalam konteks penjaminan mutu internal.

Penulis menyusun buku ajar ini sebagai pegangan atau bahan acuan untuk pengujian mikrobiologi terutama pada bahan hasil pertanian/perkebunan beserta produk olahannya. Buku ajar ini dikhususkan untuk mahasiswa semester V, dalam memahami materi kuliah uji mikrobiologi dan dapat digunakan sebagai referensi untuk praktikum. Buku ini juga dapat menjadi bahan bacaan bagi mereka yang bergerak di bidang pengolahan hasil pertanian/perkebunan.

Akhir kata, walaupun masih banyak kekurangan dalam penyelenggaraan kegiatan penyusunan ini, diharapkan dapat membantu semua pihak yang terkait dalam penyediaan prasarana pembelajaran menuju pendidikan berkualitas, khususnya pendidikan vokasi di politeknik. Semoga buku ini bermanfaat dan memenuhi harapan dari seluruh pembaca, baik mahasiswa, dosen, dan mungkin bisa untuk khalayak umum.

Pontianak, Juni 2023

Penulis



## DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Identitas Buku	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Daftar Tabel	vi
Daftar Gambar	viii
Deskripsi Mata Kuliah	x
<b>BAB I</b> <i>Foodborne Microbial Disease</i>	1
1. <i>Foodborne Microbial Disease</i>	1
2. Penyebab dan Mekanismenya	7
3. Pencegahan	16
4. Dosis Infektif	18
5. Faktor-faktor Yang Berperan Dalam <i>Foodborne Microbial Disease</i>	20
6. Contoh Kejadian Luar Biasa (KLB) <i>Foodborne Microbial Disease</i>	23
7. Rangkuman	25
8. Latihan Soal	28
<b>BAB II</b> Bakteri Patogen dan Pengujiannya	29
1. <i>Escherichia coli</i>	30
2. <i>Salmonella</i>	36
3. <i>Clostridium botulinum</i>	45
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	50
5. <i>Bacillus cereus</i>	54
6. Rangkuman	58
7. Latihan Soal	61
<b>BAB III</b> Pengendalian Mikroorganisme	62
1. Pengendalian Fisik	64
2. Pengendalian Kimia	78
3. Bahan Alami	85
4. <i>Hurdle Concept</i>	90

5. Pengujian Potensi Antimikroba	95
6. Rangkuman	104
7. Latihan Soal	109
<b>BAB IV</b> Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik	110
1. Probiotik	115
2. Prebiotik	121
3. Sinbiotik	125
4. Pengujian Aktivitas Prebiotik	127
5. Rangkuman	129
6. Latihan Soal	130
<b>BAB V</b> Cemaran Jamur dan Mikotoksin Pangan	132
1. Perkembangan Mikotoksikosis	134
2. Kapang Penyebab Mikotoksikosis	136
3. Pangan Sebagai Media Tumbuh Fungi	139
4. Mikotoksin Penting Dalam Pangan	142
5. Pengendalian Mikotoksin	147
6. Batas Cemaran Mikotoksin Dalam Bahan Pangan	149
7. Rangkuman	151
8. Latihan Soal	154
<b>Daftar Pustaka</b>	156



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Beberapa Bakteri Patogen Bawaan Pangan Penyebab Infeksi	8
Tabel 2. Beberapa Bakteri Patogen Bawaan Pangan Penyebab Intoksikasi	11
Tabel 3. Beberapa Virus Bawaan Pangan Penyebab Infeksi	13
Tabel 4. Dosis Infektif Beberapa Mikroorganisme Patogen	20
Tabel 5. Reaksi Biokimia <i>Salmonella</i>	43
Tabel 6. Kriteria Penentuan Non <i>Salmonella</i>	44
Tabel 7. Beberapa Petunjuk Penggunaan Sanitaiser	82
Tabel 8. Senyawa Antimikroba Utama dari Tanaman	88
Tabel 9. Berbagai Hurdle yang Berpotensi Dalam Pengawetan Pangan	91
Tabel 10. Hurdle Utama Dalam Pengawetan Pangan	92
Tabel 11. Kriteria Pangan Fungsional menurut 'FOSHU' Jepang	112
Tabel 12. Nutrien dan Komponen Makanan dengan Sifat Fungsional	113
Tabel 13. Mikroorganisme Probiotik	118
Tabel 14. Prebiotik dan Sumbernya	124
Tabel 15. Komoditi yang Ditemukan Terkontaminasi Mikotoksin	140
Tabel 16. Batas Maksimum Kandungan Deoksinivalenol Dalam Pangan	149
Tabel 17. Batas Maksimum Kandungan Aflatoksin Dalam Pangan	150
Tabel 18. Batas Maksimum Kandungan Fumonisin B1+B2 Dalam Pangan	150
Tabel 19. Batas Maksimum Kandungan Okratoksin A Dalam Pangan	151

Tabel 20. Batas Maksimum Kandungan Patulin Dalam Pangan

151



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Mata Rantai Pangan Pada Sistem Agro-industri Pangan	5
Gambar 2.	Kebiasaan dan Praktik-praktik yang Baik Sepanjang Aliran Bahan Pada Sistem Agro-industri Pangan	6
Gambar 3.	Skema Mekanisme Terjadinya <i>Foodborne Microbial Disease</i>	15
Gambar 4.	Poster Kampanye Memerangi Bakteri Patogen	18
Gambar 5.	Kemampuan Tumbuh dan Berkembang Mikroorganisme	19
Gambar 6.	Sel <i>E. coli</i> dengan SEM ( <i>Scanning Electromagnetic Microscope</i> )	31
Gambar 7.	Koloni <i>E. coli</i> pada media L-EMBA dan VRBA	34
Gambar 8.	Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri <i>E. coli</i>	34
Gambar 9.	Reaksi Biokimia (IMViC) Bakteri <i>E. coli</i>	36
Gambar 10.	Ilustrasi pada komputer tiga dimensi (3D) bakteri <i>Salmonella typhi</i> .	39
Gambar 11.	<i>Salmonella</i> pada media selektif (HEA, XLDA dan BSA)	41
Gambar 12.	Uji Identifikasi <i>Salmonella</i> : (1) TSIA yang tidak diinokulasi, (2) TSIA yang diinokulasi <i>Salmonella</i> (3) LIA yang tidak diinokulasi, (4) LIA yang diinokulasi <i>Salmonella</i> .	42
Gambar 13.	Hasil Pengujian Biokimia <i>Salmonella</i> dengan API20E	42
Gambar 14.	Sel <i>C. botulinum</i> , sel batang (panah kuning) dan spora klostridia (panah biru)	47
Gambar 15.	Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri <i>C. botulinum</i>	48

Gambar 16. Koloni <i>C. botulinum</i> pada media <i>Egg Yolk</i>	49
Gambar 17. Sel <i>S. aureus</i> dengan SEM	51
Gambar 18. Koloni <i>S. aureus</i> Pada BPA	53
Gambar 19. Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri <i>S. aureus</i>	54
Gambar 20. Hasil Pengujian Biokimia <i>S aureus</i> dengan API STAPH	54
Gambar 21. Sel <i>B. cereus</i> dengan SEM	55
Gambar 22. <i>B. Cereus</i> pada MYP agar	56
Gambar 23. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>B. Cereus</i>	57
Gambar 24. Analogi Aplikasi Teknologi Hurdle	92
Gambar 25. Analogi Aplikasi Teknologi Hurdle	94
Gambar 26. Zona Hambat dan Cara Pengukurannya	98
Gambar 27. Ilustrasi Cara Uji Dengan <i>Macrodilution</i>	101
Gambar 28. Ilustrasi Cara Penetapan 0,5 McFarland	103
Gambar 29. Ilustrasi Cara Uji dengan <i>Microdilution</i>	103
Gambar 30. Hubungan antara Bakteri Usus dengan Kesehatan Manusia	116
Gambar 31. <i>Aspergillus</i> sp. Di bawah Mikroskop dan Cawan Petri	137
Gambar 32. <i>Penicillium</i> sp. Di bawah Mikroskop dan Cawan Petri	138
Gambar 33. <i>Fusarium</i> sp. Di bawah Mikroskop dan Cawan Petri	138
Gambar 34. Faktor yang Mempengaruhi Keberadaan Mikotoksin Dalam Rantai Pangan	141
Gambar 35. Siklus Mikotoksin Akibat Perubahan Iklim	142

## DESKRIPSI MATA KULIAH

### 1. Identitas Mata Kuliah

- a. Judul Mata Kuliah : Uji Mikrobiologi
- b. Semester : V
- c. Prasyarat : Biologi, Mikrobiologi Dasar
- d. Jumlah Jam/Minggu : 7 jam

### 2. Ringkasan Topik/Silabus

Mata kuliah ini membahas mengenai *foodborne microbial disease*, bakteri patogen dan pengujiannya, pengendalian mikroorganisme, probiotik, prebiotik dan sinbiotik serta cemaran jamur dan mikotoksin pada bahan hasil pertanian/perkebunan.

### 3. Kompetensi yang Ditunjang

Dapat melakukan pengujian mikroorganisme serta dapat menentukan berapa jumlah mikroorganisme tersebut dalam bahan hasil perkebunan dan produk olahannya sesuai dengan prosedur yang berlaku dan dapat menerapkannya dalam setiap analisa/pengujian.

### 4. Tujuan Pembelajaran Umum

Mahasiswa memiliki pengetahuan, ketrampilan dan sifat profesionalisme dalam melakukan pengujian mikroorganisme dalam bahan hasil perkebunan dan produk olahannya sesuai dengan prosedurnya dan dapat menerapkannya dalam setiap analisa/pengujian.

### 5. Tujuan Pembelajaran Khusus

Mahasiswa memiliki pengetahuan, ketrampilan dan sifat profesionalisme dalam melakukan pengujian



mikroorganismenya patogen penyebab *foodborne microbial disease* dalam bahan hasil perkebunan dan produk olahannya sesuai dengan prosedurnya dan dapat menerapkannya dalam setiap analisa/pengujian. Mahasiswa memiliki pengetahuan, ketrampilan dan sifat profesionalisme dalam melakukan pengujian potensi antimikroba dan aktivitas prebiotik pada bahan hasil perkebunan dan produk olahannya sesuai dengan prosedurnya dan dapat menerapkannya dalam setiap analisa/pengujian.

# Bab I

## *Foodborne Microbial Disease*

### Hasil Pembelajaran Umum

Mahasiswa dapat memahami *foodborne microbial disease*.

### Hasil Pembelajaran Khusus

Mahasiswa dapat memahami tentang pengertian *foodborne microbial disease*, menjelaskan penyebab dan mekanisme terjadinya *foodborne microbial disease*, pencegahan *foodborne microbial disease*, dosis infeksi dan faktor-faktor yang berperan dalam *foodborne microbial disease*.

### Uraian Materi

Bahan pangan merupakan salah satu kebutuhan dasar manusia, yang sifatnya wajib untuk dipenuhi. Bahan pangan yang dikonsumsi manusia tidak hanya harus dapat membuat manusia merasa kenyang dan tercukupi kebutuhan energinya, namun harus dapat dijamin keamanannya. Keamanan pangan (*food safety*) adalah hal-hal yang membuat suatu produk pangan aman untuk dimakan, bebas atau terkendali dari faktor-faktor yang bisa menyebabkan penyakit, seperti sumber penyakit (*infection agents*), bahan kimia beracun, atau benda asing (*foreign objects*) yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Menurut UU No 18 (2012), Keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama,

keyakinan dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi. Dalam konteks keamanan pangan, bahaya didefinisikan sebagai sesuatu (bahan biologi, kimia atau fisik) yang terdapat di dalam pangan, tahapan pengolahan atau kondisi yang mempunyai pengaruh buruk terhadap kesehatan. Bahaya dalam bahan pangan bisa berasal dari bahan baku, air, peralatan, lingkungan termasuk hewan di sekitar sarana produksi pangan, serta manusia yang menanganinya. Keamanan pangan dapat ditinjau dari berbagai aspek, salah satunya adalah dari segi mikrobiologi.

Selama tiga dekade terakhir, di beberapa negara industri dilaporkan terjadi peningkatan masalah keamanan pangan dan setiap tahun dilaporkan hingga 10% atau lebih populasi manusia terjangkit *foodborne disease*. Hal yang sama berlaku juga di negara berkembang dan menjadi serius bila diakhiri kematian. Mikrobiologi keamanan pangan telah menjadi isu sentral dalam perdagangan pangan karena *foodborne diseases* memiliki dampak yang besar terhadap kesehatan publik. *Foodborne diseases* umumnya disebabkan oleh bakteri patogen atau metabolitnya, parasit, virus atau toksin. Epidemiologi *foodborne diseases* berubah dengan cepat. Munculnya *foodborne diseases* beriringan dengan munculnya penyakit infeksi yang bersifat menular akibat kondisi demografis, tingkah laku manusia, industri dan teknologi, pergeseran ekonomi global, adaptasi patogen dan infrastruktur kesehatan.

### **1. *Foodborne Microbial Disease***

Diketahui bahwa sekitar 90% dari penyakit pada manusia mempunyai keterkaitan dengan bahan pangan atau makanan yang dikonsumsi. Umumnya penyakit-penyakit tersebut memiliki gejala (*syndrom*) yang hampir sama, yaitu sakit perut, mual, muntah, diare, pusing, dan demam.

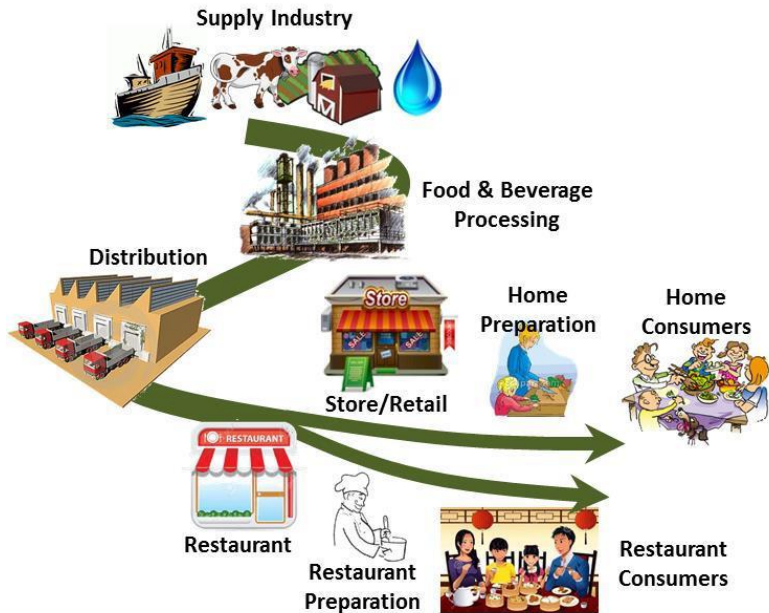
Penyakit-penyakit dengan gejala-gejala tersebut sering disebut sebagai *foodborne disease*. *Foodborne disease* secara sederhana sering disebut sebagai keracunan makanan atau penyakit akibat pangan, yang disebabkan oleh konsumsi makanan atau minuman yang telah terkontaminasi/tercemar. Menurut World Health Organization (WHO), *foodborne disease* didefinisikan sebagai penyakit yang umumnya bersifat infeksi dan intoksikasi, yang disebabkan oleh mikroba (atau pembawa lain) atau senyawa yang diproduksinya yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang dikonsumsi.

Sudah lebih dari 250 macam *foodborne disease* telah dideskripsikan oleh ilmuwan, semuanya disebabkan oleh konsumsi bahan pangan atau makanan yang tercemar atau terkontaminasi oleh kontaminan. Kontaminan atau cemaran adalah segala sesuatu yang terdapat pada bahan pangan tetapi tidak seharusnya atau selayaknya ada pada bahan pangan tersebut. Kontaminan disini berupa bahan-bahan yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Kontaminan dapat berupa agen fisik, agen kimia dan agen biologis. Agen fisik dapat berupa benda-benda asing yang secara fisik dapat mencelakakan atau mengancam keselamatan konsumen yang mengkonsumsi makanan. Agen fisik ini dapat terlihat jika mencemari makanan seperti pecahan kaca, kerikil, paku, biji stapler, tanah, serangga atau bagian tubuh serangga, tulang, plastik dan lain-lain. Keberadaan agen fisik pada bahan pangan atau makanan juga berpotensi sebagai sumber kontaminasi lain, terutama kontaminasi agen (mikro)biologis. Agen kimia adalah bahan kimia beracun yang dapat menimbulkan penyakit akut dan kronis pada konsumen yang mengkonsumsi makanan. Agen kimia tidak terlihat, namun dapat tercium baunya ataupun terasa jika terdapat dalam makanan (dalam jumlah besar), seperti

residu pestisida, herbisida dan insektisida, logam berat, pupuk kimia, toksin (baik mikotoksin, toksin mikroorganisme maupun toksin alami pada tanaman dan hewan) dan bahan kimia lainnya. Agen biologis dapat berupa mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan sakit atau keracunan. Agen biologis umumnya tidak terlihat, tercium dan terasa jika terdapat dalam makanan, seperti virus, bakteri, protozoa, parasit dan prion. Sebagian besar *foodborne disease* yang dilaporkan terkait dengan mikrobiologi keamanan pangan, terutama akibat kontaminasi agen (mikro)biologis sehingga banyak literatur yang menuliskan keracunan pangan dengan *foodborne microbial disease*.

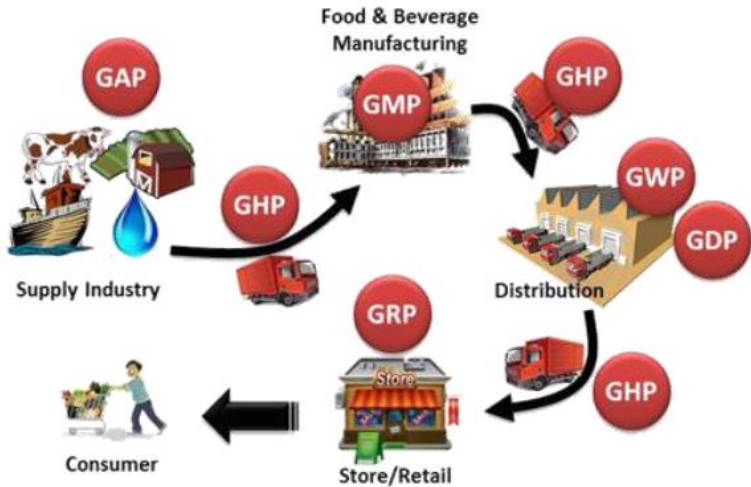
Bahan pangan, baik hewani maupun nabati dapat berperan sebagai media pembawa (*vehicle*) penyebab penyakit pada manusia. Kontaminasi pangan dapat melalui permukaan bahan pangan itu sendiri, peralatan penanganan dan pengolahan, peralatan makan, manusia dan hewan (tikus, serangga, burung dan hewan peliharaan) serta air. Mata rantai pangan berkontribusi menjadi jalur kontaminasi atau dengan kata lain menentukan kondisi keamanan pangan. Mata rantai pangan atau rantai pasok pangan merupakan suatu rantai tak putus (mengalir secara berkesinambungan) dari mulai sektor hulu sampai ke mata rantai yang paling hilir, yaitu konsumen atau dikenal dengan istilah "*from farm to table*" atau "*from farm to fork*". Pada sistem agro-industri pangan, mata rantai dimulai dari sektor hulu yaitu pertanian produksi, penanganan, pengolahan, transportasi, ritel dan yang paling hilir yaitu konsumen (Gambar 1.).





Gambar 1. Mata Rantai Pangan Pada Sistem Agro-industri Pangan (Sumber: Tobing, B., 2015)

Secara umum, usaha-usaha menjamin keamanan pangan biasa dirumuskan dalam bentuk prosedur-prosedur operasi dan praktik-praktik penanganan dan pengolahan yang baik di sepanjang mata rantai pangan. Di sepanjang aliran agro-industri pangan perlu dibangun suatu kebiasaan-kebiasaan baik dan standar prosedur operasi dalam penanganan pangan yang merupakan prasyarat dasar untuk membangun mutu dan keamanan pangan yang baik (Gambar 2.).



Gambar 2. Kebiasaan dan Praktik-praktik yang Baik Sepanjang Aliran Bahan Pada Sistem Agro-industri Pangan (Sumber: Tobing, B., 2015)

Seperti pada Gambar 2. Usaha untuk menjamin keamanan pangan dengan meminimalkan kontaminasi dapat di mulai pada pertanian produksi dengan penerapan praktik pertanian yang baik (*good agriculture practices*; GAP), praktik penanganan yang baik (*good handling practices*; GHP), praktik pengolahan yang baik (*good manufacturing practices*; GMP), praktik transportasi dan distribusi yang baik (*good transportation/distribution practices*; GTP), praktik penyimpanan yang baik (*good warehouse practices*; GWP) dan praktik ritel yang baik (*good retail practices*; GRP). Selain itu sepanjang aliran agro-industri pangan diberlakukan prosedur baku sanitasi (*Sanitation Standard Operating Procedures*; SSOPs).

## 2. Penyebab dan Mekanismenya

Dewasa ini, kesadaran masyarakat akan kesehatan semakin meningkat. Terlihat dengan munculnya *trend* atau gaya hidup masyarakat yang mulai meninggalkan konsumsi bahan pangan olahan dan awetan bergeser ke konsumsi bahan pangan segar seperti buah-buahan dan sayuran. Kondisi ini menuntut ketersediaan bahan pangan segar sepanjang tahun, dan didukung dengan globalisasi pasokan pangan. Saat ini sudah tidak asing lagi menemukan buah-buahan dan sayuran import di pasaran. Terkait dengan *foodborne microbial disease*,  $\pm 12\%$  dari penyakit pencernaan yang terjadi saat ini berhubungan dengan keberadaan mikroorganisme pada bahan pangan segar. Hal ini juga berhubungan dengan ketidaktahuan masyarakat mengenai bagaimana mikroorganisme patogen dapat mengganggu kesehatan manusia. Meningkatnya mikroorganisme patogen pada bahan pangan merupakan dampak dari globalisasi pasokan pangan.

*Foodborne microbial disease* disebabkan oleh berbagai mikroorganisme patogen yang mengkontaminasi bahan pangan. Mikroorganisme patogen adalah mikroorganisme yang bersifat sangat merugikan karena mampu menyebabkan penyakit. Kelompok mikroorganisme patogen utama penyebab *foodborne microbial disease* adalah bakteri, virus, protozoa, dan parasit. Kelompok mikroorganisme patogen ini dapat menyebabkan penyakit dengan gejala awal mual, muntah, sakit perut, diare, pusing, demam sampai gagal ginjal dan dapat menyebabkan kematian. Tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkan tergantung patogenitas mikroorganismenya dan sistem imun manusia (kemampuan tubuh untuk menahan serangan penyakit). Patogenitas sendiri merupakan kemampuan organisme untuk menyebabkan penyakit.

**Tabel 1. Beberapa Bakteri Patogen Bawaan Pangan Penyebab Infeksi**

Bakteri	Sifat Bakteri	Penyakit	Sumber	Pangan Terkait KLB ( <i>outbreak</i> )
<i>Salmonella enterica</i> , terdiri dari > 2000 serotipe	Tidak tahan panas, tahan kekeringan	Gastroenteritis ( <i>Salmonella</i> non tifoid). Penyakit berikut tidak selalu bawaan pangan karena bisa ditularkan dari orang-orang: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tifus (<i>S. Typhi</i>)</li> <li>• Demam enterik (<i>S. Paratyphi</i>)</li> </ul>	Hewan, kotoran hewan, air yang tercemar kotoran manusia ( <i>S. Typhi</i> , <i>S. Paratyphi</i> )	Daging unggas, daging, telur tidak/kurang matang, susu pasteurisasi, bubuk paprika, <i>peanut butter</i> , kelapa parut kering, sayur, buah olah minimal Tifus/paratifus: air, pangan non spesifik (pekerja)
<i>Escherichia coli enterohemoragik</i> , misal: <i>E. coli</i> O157:H7, <i>E. coli</i> O104:H4	Tidak tahan panas, tahan asam, tahan pembekuan	Diare berdarah ( <i>hemorrhagic colitis</i> ), gagal ginjal ( <i>hemolytic uremic syndrome</i> ), gangguan syaraf	Sapi, kotoran sapi	Daging giling, <i>hamburger</i> , sosis alami, tauge alfalfa, susu pasteurisasi, air, jus apel, bayam dan selada

		( <i>thrombotic thrombocytopenic purpura</i> )		siap makan
<i>Vibrio cholerae</i>	Tidak tahan panas, toleran terhadap garam	Kholera (keluarnya cairan tubuh dalam jumlah sangat banyak)	Air, feses manusia	Kerang-kerangan, sering menjadi masalah non-pangan terkait kekurangan air bersih di penampungan, bencana banjir dan sebagainya
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Tidak tahan panas, toleran terhadap garam	Gastroenteritis	Air payau	Udang, tiram dan kerang mentah atau kurang masak
<i>Listeria monocytogenes</i>	Tidak tahan panas, tahan suhu rendah (refrigerasi)	Gejala serupa flu pada orang dewasa, dapat ditransfer dari ibu hamil ke janin dan mengakibatkan kematian saat lahir ( <i>stillbirth</i> ), keguguran pada trisemester ke-3 atau meningitis	Lingkungan, debu, tanah	Salad kubis ( <i>coleslaw</i> ), keju lunak, susu pasteurisasi, selada

<i>Clostridium perfringens</i>	Pembentuk spora, tahan panas, “buffet germ”	pada bayi Gastroenteritis	Lingkungan, debu, tanah, kotoran manusia	Daging matang, saus daging (gravy) (dalam pesta/prasmanan)
<i>Enterobacter sakazakii</i> ( <i>Cronobacter spp</i> )	Tidak tahan panas, tahan kekeringan	Kerusakan usus, meningitis pada bayi <1 bulan atau bayi berat lahir rendah atau bayi prematur	Lingkungan	Susu formula
<i>Campylobacter jejuni</i>	Tidak tahan panas, tidak tahan beku, memerlukan sedikit CO <sub>2</sub> (kapnofilik), sedikit O <sub>2</sub> (mikroaerofilik)	Gastroenteritis, kadang diikuti dengan gangguan kelumpuhan “Guillain Barre Syndrome”	Daging unggas	Daging unggas kurang matang
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Tidak tahan panas, tahan suhu rendah (refrigerasi)	Gastroenteritis	Hewan ternak, khususnya a babi	Susu pasteurisasi, daging (sapi, babi) kurang matang

Sumber: Dewanti-Hariyadi, R., 2013

**Tabel 2. Beberapa Bakteri Patogen Bawaan Pangan Penyebab Intoksikasi**

Bakteri	Sifat Bakteri	Penyakit	Sumber	Pangan Terkait KLB ( <i>outbreak</i> )
<i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>enterotoksin stafilokoki</i>	Tidak tahan panas, enterotoksin tahan panas	Keracunan <i>stafilokoki</i> : muntah, mual	Hidung, mulut, tenggorokan, kulit manusia	Kue isi <i>custard</i> , susu pasteurisasi, <i>sandwich</i> isi daging untuk piknik
<i>Burkholderia cocovenenas</i> (dahulu: <i>Pseudomonas cocovenenas</i> ) dan toksoflavin serta asam bongkrek	Tidak tahan panas, neurotoksin tahan panas	Keracunan bongkrek	Lingkungan, tanah	Tempe bongkrek (tempe hasil fermentasi ampas kelapa)
<i>Bacillus cereus</i> dan toksin diare serta toksin emetik	Pembentuk spora tahan panas, enterotoksin tidak tahan panas	Keracunan <i>Bacillus cereus</i> , muntah, diare	Lingkungan, tanah	Nasi, nasi goreng, puding beras
<i>Clostridium botulinum</i> dan toksin botulin	Pembentuk spora tahan panas, neurotoksin tidak tahan panas	Adult botulism pada orang dewasa: penglihatan ganda, kelumpuhan, kematian	Lingkungan, tanah, saluran pencernaan, perairan	<i>Baked potato</i> , <i>garlic in oil</i> , ikan kaleng, topping hazelnut rendah gula

Sumber: Dewanti-Hariyadi, R., 2013

Bakteri adalah kelompok yang paling banyak dilaporkan dan diketahui mekanismenya dalam menyebabkan penyakit melalui bahan pangan, diantaranya *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* dan lain-lain. Bakteri penyebab penyakit bawaan pangan atau dikenal sebagai bakteri patogen bawaan pangan (*foodborne pathogen*) memiliki perilaku yang berbeda-beda selama penanganan dan pengolahan bahan pangan, tergantung kemampuannya dalam membentuk spora, memproduksi toksin, bertahan atau bahkan tumbuh pada suhu rendah, kebutuhan oksigen dan sebagainya. Karenanya, tiap bakteri patogen bawaan pangan dapat mengakibatkan penyakit bawaan pangan yang berbeda dengan mekanisme yang berbeda pula (Tabel 1 dan 2.).

Berdasarkan data kejadian luar biasa (KLB, *outbreak*) pangan yang diinvestigasi dan dilaporkan pada tahun 2014, bakteri patogen bawaan pangan utama penyebab KLB tidak berbeda dari tahun-tahun sebelumnya. Bakteri *Salmonella*, *L. monocytogenes* dan *E. coli* enterohemoragik penyebab utama KLB di Amerika Serikat (AS) dan Kanada, sedangkan *Campylobacter*, *Salmonella* dan *L. monocytogenes* di Benua Eropa.

Di AS, pangan penting pembawa *Salmonella* adalah *fresh produce* (sayur dan buah segar), *low moisture food* seperti kacang dan produk olahannya serta produk oleh (*spread*) hasil industri kecil dan atau rumah tangga. Sementara itu di Eropa, *Salmonella* terkait dengan produk hewani yaitu daging unggas, daging sapi dan daging babi. *L. monocytogenes* merupakan bakteri patogen penting, di AS dan Kanada bakteri ini menyebabkan KLB melalui *caramelapple*, baso daging dan keju segar (*home made fresh cheese*). Di Eropa, bakteri ini menyebabkan KLB dengan



fatalitas tertinggi di Denmark terkait produk sosis daging. *E. coli* enterohemoragik penyebab diare berdarah dan gagal ginjal, umumnya dikaitkan dengan konsumsi daging giling dan sayuran segar seperti bayam, selada, tauge, biji cengkeh dan salad.

Virus, protozoa dan parasit adalah makhluk hidup yang bersifat parasit obligat intraseluler, artinya hanya bisa tumbuh dan berkembang biak sebagai parasit dalam inang (manusia, hewan atau tanaman) hidup yang ditumpanginya. Sehingga dapat dikatakan bahwa virus, protozoa dan parasit tidak bisa tumbuh dan berkembang dalam pangan, sebagaimana bakteri. Namun, ketiganya dapat bertahan dalam pangan dan jika terkonsumsi dapat menyebabkan infeksi pada manusia.

Virus sangat mudah dinaktifkan oleh panas, karenanya virus lebih banyak ditemukan dalam pangan yang tidak diolah. Perkembangan teknologi deteksi saat ini telah menunjukkan peningkatan kasus *foodborne microbial disease* yang disebabkan oleh virus seperti *Norovirus* dan *Rotavirus* (Tabel 3). Pada tahun 2013 dilaporkan hampir setengah (49%) dari KLB di AS disebabkan oleh *Norovirus*. Virus ini umumnya terkait dengan sayur hijau, buah segar dan tiram mentah.

**Tabel 3. Beberapa Virus Bawaan Pangan Penyebab Infeksi**

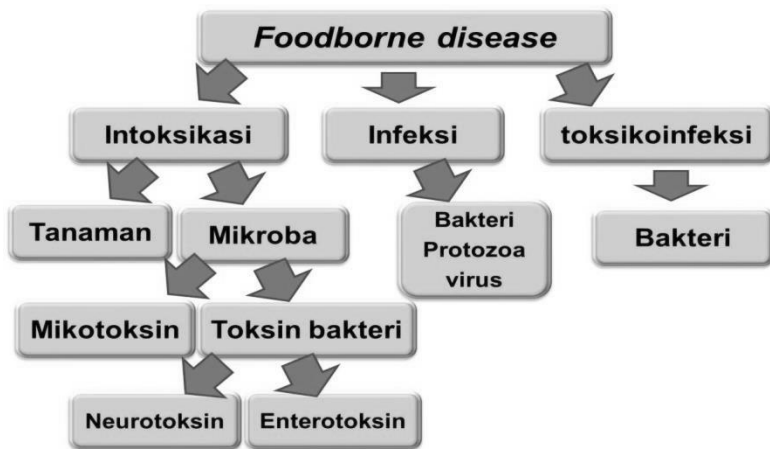
Virus	Penyakit	Pangan dan Kondisi Terkait KLB ( <i>outbreak</i> )
<i>Norovirus</i> (dulu dikenal sebagai Norwalk-like virus)	Diare	Raspberry, <i>cruise ship</i>
<i>Rotavirus</i>	Diare (bayi)	Air tercemar
Virus hepatitis A	Kerusakan hati	Kerang, air yang tercemar
Virus hepatitis E	Kerusakan hati	Air yang tercemar

Sumber: Dewanti-Hariyadi, R., 2013

Kelompok protozoa dan cacing umumnya ditemukan dalam pangan sebagai sista (*cyst*) atau telur yang bersifat mikroskopik, tahan kekeringan dan dapat bertahan dalam pangan. Namun, mudah diinaktifkan dengan pemanasan dan pembekuan. *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum* dan *Cyclospora cayetensis* adalah contoh protozoa penting. Keberadaan *G. Lamblia* dalam air sering menyebabkan infeksi melalui konsumsi air. *Cryptosporidium parvum* dan *Cyclospora cayetensis* banyak dilaporkan dapat menyebabkan infeksi melalui konsumsi sayur-mayur mentah dan atau air. Cacing (*helminth*) dapat digolongkan cacing gilig (*nematoda*), cacing pipih/pita (*trematoda*) maupun cacing bintang (*fluke*). Telur cacing yang tertelan dapat berkembang biak dalam tubuh hewan maupun manusia dan mengganggu absorpsi zat gizi oleh tubuh. *Ascaris lumbricoides* pada pangan yang terkontaminasi fekal manusia dan *Trichinella spiralis* pada daging babi adalah contoh cacing gilig. *Cysticercosus bovis* (dulu dikenal sebagai *Taenia saginata*) pada daging sapi dan *Taenia solium* pada daging babi adalah contoh cacing pita. Sementara itu *Fasciola hepatica* pada hati sapi dan kambing adalah contoh cacing bintang yang dapat menyebabkan infeksi.

Secara umum, mikroorganisme patogen menyebabkan *foodborne microbial disease* dengan tiga mekanisme utama, yaitu intoksikasi, infeksi dan toksikoinfeksi (Gambar 3). Intoksikasi merupakan penyakit yang diakibatkan terkonsumsi atau tertelannya toksin ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri atau mikroorganisme lain dalam bahan pangan, atau toksin alami pada tanaman. *Staphyococcus aureus* adalah bakteri bukan pembentuk spora yang dapat menghasilkan toksin yang dikenal sebagai enterotoksin *stafilokoki* dalam pangan khususnya pangan

berprotein tinggi yang disimpan pada suhu kamar. *Bacillus cereus* adalah bakteri pembentuk spora yang tahan panas, dapat menghasilkan dua jenis toksin yaitu toksin diare dan toksin emetik pada pangan yang telah dimasak. Infeksi terjadi karena masuknya atau tertelannya sel hidup bersamasama bahan pangan. Sel hidup tersebut karena beberapa hal dapat bertahan dari sistem pertahanan tubuh manusia dan kemudian mengkolonisasi bagian tubuh manusia (misalnya saluran pencernaan) dengan menggunakan fimbri atau faktor adheren lainnya, kemudian tumbuh dan berkembang biak. Pada kasus tertentu dapat menembus bagian organ dan menginfeksi organ tubuh lain, yang dikenal sebagai invasi.



Gambar 3. Skema Mekanisme Terjadinya *Foodborne Microbial Disease*

*Salmonella* adalah bakteri penyebab *salmonellosis* yang umum menginfeksi saluran pencernaan manusia. *E. coli* umum menyebabkan gangguan perut dengan gejala demam dan diare. *Enterohemoragik E. coli* (EHEC) merupakan

strain *E. coli* yang paling banyak menyebabkan infeksi melalui makanan mentah, tidak dimasak dengan cukup, atau tercemar setelah pemasakan. Pada kasus yang berat dapat menimbulkan komplikasi *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) atau infeksi saluran urin sampai gagal ginjal pada anak-anak dan orang tua. Toksikoinfeksi adalah penyakit yang diakibatkan oleh tertelannya sel bakteri penyebab infeksi, kemudian menghasilkan toksin di dalam tubuh yang selanjutnya masuk ke peredaran darah. *Clostridium perfringens* telah dilaporkan menyebabkan toksikoinfeksi.

### 3. Pencegahan

Langkah-langkah umum yang diperlukan dalam pencegahan *foodborne microbial disease* adalah menerapkan kebiasaan-kebiasaan baik dan standar prosedur operasi dalam penanganan pangan sepanjang aliran bahan pada sistem agro-industri pangan sebagaimana tersaji pada Gambar 2. di atas. Program pencegahan *foodborne microbial disease* yang telah disosialisasikan secara global (merupakan salah satu program *World Health Organization*; WHO) dikenal dengan lima kunci keamanan pangan dalam upaya memerangi bakteri patogen penyebab *foodborne microbial disease* (Gambar 4). Kelima kunci keamanan pangan tersebut adalah:

- *Check*, yaitu menggunakan selalu air bersih dan mutu bahan baku yang aman. Bahan baku yang digunakan hendaklah dipilih dari bahan yang masih segar dan baru. Pangan olahan yang akan diolah kembali harus diperhatikan tampilan fisiknya dan tanggal kadaluwarsanya.

- *Clean*, yaitu menjaga kebersihan dengan selalu mencuci tangan, bahan baku dan peralatan pengolahan. Cuci tangan harus dilakukan sebelum dan selama mengolah pangan serta setelah menggunakan toilet. Selalu mencuci bahan baku dengan air bersih, terutama buah dan sayur yang akan dikonsumsi mentah. Menjaga kebersihan dengan mencuci dan melakukan sanitasi permukaan dan alat pengolahan serta menjaga dapur dan bahan pangan dari kontaminasi serangga atau hewan lain.
- *Separate*, yaitu menghindari kontaminasi silang dengan memisahkan bahan pangan mentah dengan bahan pangan yang sudah masak. Perlu pemisahan peralatan, seperti pisau dan talenan. Pastikan bahan pangan disimpan pada wadah tertutup untuk menghindari kontaminasi silang.
- *Cook*, yaitu memasak dengan sempurna setiap jenis pangan, terutama pangan berprotein tinggi seperti daging, telur dan ikan. Makanan berkuah harus dimasak sampai mendidih, suhu internal pangan yang dimasak setidaknya mencapai 70°C. Pemanasan kembali masakan matang juga harus dilakukan dengan sempurna.
- *Chill*, yaitu menempatkan pangan pada suhu yang tepat. Penyimpanan makanan matang dan pangan mudah rusak sebaiknya pada suhu dingin <5°C atau pada suhu tinggi >60°C. Suhu antara 5-60°C dikenal sebagai zona berbahaya (*danger zone*), karena ini merupakan suhu optimum pertumbuhan bakteri patogen. Sehingga disarankan untuk tidak menyimpan bahan pangan, terutama pangan olahan pada zona berbahaya tersebut untuk waktu yang lama.

Selain itu ada slogan *throw away*, yaitu membuang bahan pangan yang secara fisik sudah tidak layak konsumsi atau bahan pangan yang mulai rusak. Kerusakan pada bahan biasanya ditandai dengan adanya perubahan warna, bau, adanya lendir, pelunakan struktur dan pembusukan.



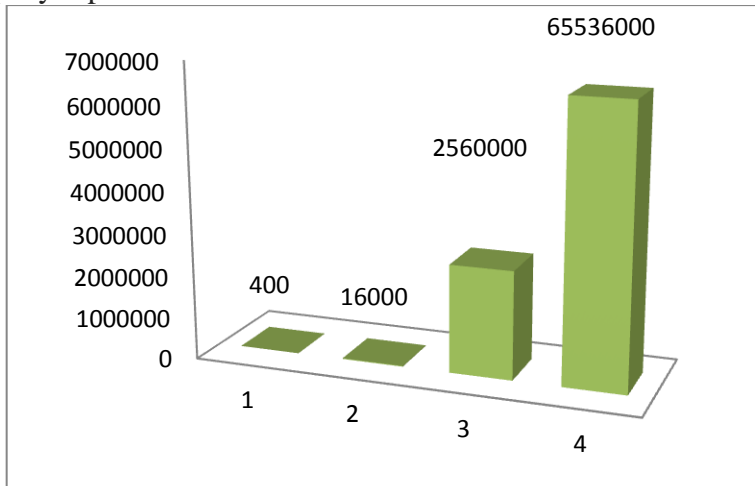
### **Keep Food Safe From Bacteria**

Gambar 4. Poster Kampanye Memerangi Bakteri Patogen

#### **4. Dosis Infektif**

*Foodborne microbial disease* seringkali dianalogikan sebagai bom waktu keamanan pangan, hal ini terkait kemampuan mikroorganisme patogen dalam berkembang biak. Mikroorganisme mempunyai kemampuan tumbuh yang sangat cepat, seperti halnya bakteri. Bakteri berkembang biak dengan membelah diri, sehingga jumlahnya dapat meningkat dengan sangat cepat jika berada pada kondisi optimum pertumbuhannya sebagaimana

diilustrasikan pada Gambar 5. Hal ini seringkali membuat bahan pangan yang tadinya aman dikonsumsi berubah menjadi tidak aman saat dikonsumsi karena terjadi peningkatan jumlah sel mikroorganisme patogen selama penyimpanan.



Gambar 5. Kemampuan tumbuh dan berkembang mikroorganisme

Adanya mikroorganisme pada bahan pangan tidak selalu menimbulkan *foodborne microbial disease*, biasanya ditentukan oleh dosis infeksi. Dosis infeksi menyatakan jumlah minimum sel mikroorganisme patogen untuk dapat menyebabkan penyakit pada orang yang mengkonsumsi makanan yang tercemar. Dosis infeksi secara relatif ditentukan oleh derajat patogenitas organisme, substansi toksin yang dihasilkan, jenis bahan pangan (matriks bahan pangan) dan kondisi individu atau sistem imun individu. Bakteri patogen memiliki dosis infeksi yang berbeda-beda sebagaimana tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 4. Dosis Infektif Beberapa Mikroorganisme Patogen**

<b>Mikroorganisme Patogen</b>	<b>Dosis Infektif</b>
<i>Salmonella</i>	$10^5 - 10^8$ sel
<i>Clostridium perfringens</i>	$10^6 - 10^8$ sel
<i>Bacillus cereus</i>	$10^6 - 10^8$ sel
<i>Campylobacter jejuni</i>	$10^7 - 10^8$ sel
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	$10^6 - 10^8$ sel
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^6 - 10^8$ sel
Virus	1 – 10 sel

## **5. Faktor-faktor Yang Berperan Dalam *Foodborne Microbial Disease***

Kasus *foodborne microbial disease* yang terjadi dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya *foodborne microbial disease* adalah standar keamanan dan mutu pangan yang rendah, rendahnya praktek sanitasi dan higiene, pencemaran bahan pangan dan faktor-faktor pertumbuhan mikroorganisme patogen itu sendiri.

### **Standar keamanan dan mutu pangan yang rendah.**

Standar keamanan untuk produk pangan yang beredar di Indonesia, baik pangan segar maupun olahan telah dijamin oleh pemerintah dan tertuang dalam Undang-undang No. 7 tentang Pangan. Mutu pangan juga telah dijamin dengan diterbitkannya Standar Nasional Indonesia (SNI) yang memuat syarat mikrobiologi untuk setiap jenis pangan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN). Konsumsi bahan pangan dengan mutu pangan yang rendah lebih disebabkan oleh rendahnya pengetahuan masyarakat terkait keamanan dari bahan pangan dengan mutu yang rendah. Selain itu adanya budaya di masyarakat untuk memanfaatkan bahan-



bahan yang ada termasuk bahan pangan dengan mutu rendah.

**Rendahnya praktek sanitasi dan higiene.** Rendahnya praktik sanitasi pangan, baik sanitasi lingkungan kerja peralatan maupun sumber air sering ditemukan pada usaha-usaha kecil yang bergerak di bidang pangan. Kondisi ini umumnya disebabkan rendahnya pengetahuan masyarakat (pengelola usaha) dan kurang aktifnya lembaga atau instansi pemerintah dalam sosialisasi serta pengawasan terkait sanitasi pangan. Pada dasarnya, rendahnya praktek sanitasi dapat menyebabkan kerugian ekonomi bagi usaha, terutama akibat kebusukan atau komplain konsumen karena adanya bahan-bahan yang tidak seharusnya dalam makanan. Higiene pekerja (pengelola pangan) juga perlu diperhatikan karena dari berbagai laporan KLB yang terjadi, pekerja seringkali menjadi pembawa (*vehicle*) penyebab penyakit pada manusia melalui pangan. Pekerja harus selalu memelihara kebersihan diri, seperti selalu mencuci tangan sebelum kontak dengan bahan pangan, memotong kuku, mengenakan pakaian yang bersih dan selalu menutup mulut dengan sapu tangan atau tisu ketika batuk atau bersin di ruang pengolahan pangan. Disarankan pekerja yang sedang sakit sebaiknya tidak terlibat dalam pengolahan pangan.

**Pencemaran bahan pangan.** Akar permasalahan keamanan pangan sering berawal dari adanya kebiasaan atau praktik pengolahan pangan yang kurang baik sehingga terjadi pencemaran bahan pangan. Pencemaran dapat terjadi sepanjang mata rantai pangan, namun penerapan kebiasaan yang baik sepanjang mata rantai pangan dapat menekan tingkat pencemaran tersebut.

**Faktor-faktor pertumbuhan mikroorganisme patogen** meliputi nutrisi, pH dan aktivitas air ( $A_w$ ) bahan, suhu, oksigen ( $O_2$ ), waktu kontak dan interaksi mikrobial.

Pertumbuhan mikroorganisme dimungkinkan karena adanya nutrisi dari bahan pangan. Secara umum adanya kandungan gula dan protein dalam bahan pangan dapat dimanfaatkan mikroorganisme sebagai sumber karbon dan nitrogen. Adanya vitamin seperti vitamin B pada bahan pangan juga dapat digunakan sebagai faktor pertumbuhan. Namun, beberapa mikroorganisme dapat tumbuh pada media dengan nutrisi yang minim. Bagi mikroorganisme, pH bahan pangan berpengaruh besar bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya, terutama pada fungsi enzim dan proses transpor nutrisi. Kelompok mikroorganisme patogen umumnya tergolong netrofilik, yaitu mikroorganisme dengan rentang pH pertumbuhan pada pH netral dengan pH optimum 7.0. Resiko kontaminasi pangan dapat dikurangi dengan menurunkan pH menggunakan asam organik maupun inorganik. Aw adalah jumlah air bebas yang dapat dipergunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Setiap jenis mikroorganisme memiliki Aw optimum pertumbuhannya, untuk membentuk spora atau memproduksi toksin biasanya mikroorganisme membutuhkan Aw yang lebih tinggi dari Aw optimum pertumbuhannya. Kelompok bakteri patogen umumnya hidup dan berkembang biak pada Aw di bawah 0,98-0,99. Suhu merupakan faktor dari luar bahan pangan yang sangat penting bagi pertumbuhan mikroorganisme. Secara umum kelompok mikroorganisme patogen umumnya tergolong mesofilik, yaitu mikroorganisme dengan suhu optimum pertumbuhan pada kisaran suhu 20-45°C. Namun, beberapa jenis termasuk psikofilik, yaitu mikroorganisme dengan suhu optimum pertumbuhannya  $\leq 15^{\circ}\text{C}$ . Adanya  $\text{O}_2$  juga mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Sebagian besar kelompok mikroorganisme patogen merupakan kelompok aerobik obligat dan aerobik fakultatif. Kelompok

aerobik obligat adalah kelompok mikroorganisme yang hanya dapat hidup pada lingkungan beroksigen, sedangkan kelompok aerobik fakultatif adalah kelompok mikroorganisme yang dapat hidup pada lingkungan beroksigen maupun minim O<sub>2</sub>. Namun, beberapa jenis merupakan kelompok anaerobik obligat yaitu kelompok mikroorganisme yang tidak dapat hidup dalam kondisi ada O<sub>2</sub>. Waktu kontak biasanya menyatakan waktu tunggu dari setelah bahan pangan dimasak sampai saat akan dikonsumsi. Semakin lama waktu tunggu maka akan semakin berpeluang adanya pertumbuhan sel dan semakin beresiko jika dikonsumsi, apalagi jika suhu penyimpanan adalah suhu optimum pertumbuhan mikroorganisme. Interaksi mikrobial menyatakan adanya interaksi antara mikroorganisme dengan mikroorganisme lain (kompetitor) dalam bahan pangan yang sama. Kelompok bakteri patogen jarang ditemukan sebagai kultur murni pada bahan pangan. Jenis mikroorganisme yang tak mampu bersaing akan tereliminasi atau berkurang jumlahnya.

## **6. Contoh Kejadian Luar Biasa (KLB, *outbreak*) *Foodborne Microbial Disease***

Cukup banyak kasus *foodborne microbial disease* yang telah terjadi, jika kasus tersebut menimbulkan minimal 1 kematian maka akan ditetapkan sebagai KLB. Di Indonesia sudah cukup banyak KLB yang telah dilaporkan terkait *foodborne microbial disease*, hanya saja cukup sulit untuk memperoleh data lengkap kasus tersebut berikut investigasi atau kajian epidemiologinya. Di negara-negara besar seperti di Eropa dan Amerika Serikat, telah ada lembaga khusus yang menangani KLB *foodborne microbial disease* maupun KLB lain. Di Eropa terdapat *European Food Safety Authority* (EFSA) dan *European Centre for*

*Disease Prevention and Control* (ECDC) di Amerika Serikat terdapat CDC (CDC).

KLB yang memakan korban sangat banyak adalah kasus *E. coli* di Eropa pada tahun 2011. Infeksi pertama diketahui terjadi pada acara *gathering* dan konsumsi salad sayuran mentah, selanjutnya berkembang dalam waktu singkat (<1 bulan). Gejala klinis yang dilaporkan berupa kram perut, diare berdarah, muntah-muntah dan *Hemolytic Uremic Syndrom/HUS* (frekuensi buang air kecil menurun, merasa sangat lelah, anemia, gagal ginjal dan penurunan jumlah platelet. Dilaporkan terdapat 3.126 kasus diare berdarah dengan 17 kematian dan 773 kasus HUS dengan 29 kematian akibat gagal ginjal. Hasil investigasi lengkap diketahui penyebab infeksi *E. coli* O104:H4 dengan faktor virulensi EHEC yang memiliki gen *stx2* yaitu gen pembentuk toksin yang ada pada *Shigella*. Seperti diketahui, EHEC merupakan strain *E. coli* yang paling banyak menyebabkan infeksi melalui makanan mentah, tidak dimasak dengan cukup, atau tercemar setelah pemasakan. Skenario penyebaran terjadi melalui kacang fenugreek yang kemudian dikecambahkan dalam jumlah besar. Kecambah yang dihasilkan didistribusikan ke banyak lokasi, terutama Jerman dan wilayah disekitarnya. Kecambah diolah bersama bahan segar lainnya dan disajikan sebagai salad pada acara *gathering*. Peserta acara sebagian besar menderita sakit diare berdarah sampai gagal ginjal. Mekanisme Patogenitas *E. coli* O104:H4 adalah sebagai berikut: EHEC dikonsumsi bersama makanan dan masuk ke dalam saluran pencernaan. Sel hidup tersebut karena beberapa hal dapat bertahan dari sistem pertahanan tubuh manusia (asam lambung) dan kemudian mengkolonisasi bagian saluran pencernaan, yaitu usus halus dan usus besar dengan menggunakan fimbri atau faktor adheren lainnya, kemudian tumbuh dan berkembang

baik serta menyebabkan diare. EHEC menginvasi saluran pencernaan dan menyebabkan kerusakan pada microvili, selanjutnya menghasilkan Shiga-toxin. Toksin yang dihasilkan menyebabkan kerusakan pada sel ditandai dengan diare berdarah. Selain itu toksin masuk ke sirkulasi darah sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel darah yang berujung pada pendarahan internal. Komplikasi juga menyebabkan HUS, gagal ginjal dan lain-lain yang berujung pada kematian.

## Rangkuman

Keamanan pangan (*food safety*) adalah hal-hal yang membuat suatu produk pangan aman untuk dimakan, bebas atau terkendali dari faktor-faktor yang bisa menyebabkan penyakit, seperti sumber penyakit (*infection agents*), bahan kimia beracun, atau benda asing (*foreign objects*) yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Keamanan pangan dapat ditinjau dari berbagai aspek, salah satunya adalah dari segi mikrobiologi. Mikrobiologi keamanan pangan telah menjadi isu sentral dalam perdagangan pangan karena *foodborne diseases* memiliki dampak yang besar terhadap kesehatan publik.

*Foodborne disease* secara sederhana sering disebut sebagai keracunan makanan atau penyakit akibat pangan, yang disebabkan oleh konsumsi makanan atau minuman yang telah terkontaminasi/tercemar. Menurut World Health Organization (WHO), *foodborne disease* didefinisikan sebagai penyakit yang umumnya bersifat infeksi dan intoksikasi, yang disebabkan oleh mikroba (atau pembawa lain) atau senyawa yang diproduksinya yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang dikonsumsi.

Mata rantai pangan berkontribusi menjadi jalur kontaminasi atau dengan kata lain menentukan kondisi keamanan pangan. Mata rantai pangan atau rantai pasok pangan merupakan suatu rantai tak putus (mengalir secara berkesinambungan) dari mulai sektor hulu sampai ke mata rantai yang paling hilir, yaitu konsumen atau dikenal dengan istilah “*from farm to table*” atau “*from farm to fork*”. Secara umum, usaha-usaha menjamin keamanan pangan biasa dirumuskan dalam bentuk prosedur-prosedur operasi dan praktik-praktik penanganan dan pengolahan yang baik di sepanjang mata rantai pangan.

*Foodborne microbial disease* disebabkan oleh berbagai mikroorganisme patogen yang mengkontaminasi bahan pangan. Mikroorganisme patogen adalah mikroorganisme yang bersifat sangat merugikan karena mampu menyebabkan penyakit. Kelompok mikroorganisme patogen utama penyebab *foodborne microbial disease* adalah bakteri, virus, protozoa, dan parasit. Kelompok mikroorganisme patogen ini dapat menyebabkan penyakit dengan gejala awal mual, muntah, sakit perut, diare, pusing, demam sampai gagal ginjal dan dapat menyebabkan kematian. Bakteri adalah kelompok yang paling banyak dilaporkan dan diketahui mekanismenya dalam menyebabkan penyakit melalui bahan pangan, diantaranya *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* dan lain-lain.

Secara umum, mikroorganisme patogen menyebabkan *foodborne microbial disease* dengan tiga mekanisme utama, yaitu intoksikasi, infeksi dan toksikoinfeksi. Intoksikasi merupakan penyakit yang diakibatkan terkonsumsi atau tertelannya toksin ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri atau mikroorganisme lain dalam bahan pangan, atau toksin alami pada tanaman. Infeksi terjadi karena masuknya atau

tertelannya sel hidup bersama-sama bahan pangan. Sel hidup tersebut karena beberapa hal dapat bertahan dari sistem pertahanan tubuh manusia dan kemudian mengkolonisasi bagian tubuh manusia (misalnya saluran pencernaan) dengan menggunakan fimbri atau faktor adheren lainnya, kemudian tumbuh dan berkembang biak. Pada kasus tertentu dapat menembus bagian organ dan menginfeksi organ tubuh lain, yang dikenal sebagai invasi. Toksikoinfeksi adalah penyakit yang diakibatkan oleh tertelannya sel bakteri penyebab infeksi, kemudian menghasilkan toksin di dalam tubuh yang selanjutnya masuk ke peredaran darah.

Program pencegahan *foodborne microbial disease* yang telah disosialisasikan secara global (merupakan salah satu program *World Health Organization*; WHO) dikenal dengan lima kunci keamanan pangan dalam upaya memerangi bakteri patogen penyebab *foodborne microbial disease* yaitu *check, clean, separate, cook, dan chill*, serta *throw away*. Adanya mikroorganisme pada bahan pangan tidak selalu menimbulkan *foodborne microbial disease*, biasanya ditentukan oleh dosis infeksi. Dosis infeksi menyatakan jumlah minimum sel mikroorganisme patogen untuk dapat menyebabkan penyakit pada orang yang mengkonsumsi makanan yang tercemar. Faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya *foodborne microbial disease* adalah standar keamanan dan mutu pangan yang rendah, rendahnya praktek sanitasi dan higiene, pencemaran bahan pangan dan faktor-faktor pertumbuhan mikroorganisme patogen itu sendiri.

## Latihan Soal

Jawablah pertanyaan-pertanyaan dibawah ini dengan singkat dan jelas!

1. Apa yang dimaksud dengan *foodborne microbial disease*?
2. Jelaskan agen kontaminan yang mungkin terdapat pada bahan pangan!
3. Jelaskan titik-titik pada mata rantai pangan yang berkontribusi menjadi jalur kontaminasi bahan pangan!
4. Jelaskan kelompok bakteri patogen penyebab *foodborne microbial disease*!
5. Jelaskan tiga mekanisme terjadinya *foodborne microbial disease*!
6. Jelaskan langkah-langkah pencegahan *foodborne microbial disease*!
7. Jelaskan makna dari poster kampanye memerangi bakteri patogen!
8. Apa yang dimaksud dengan dosis infeksi?
9. Jelaskan faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya *foodborne microbial disease*!
10. Jelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme patogen!



## Bab II

### Bakteri Patogen dan Pengujiannya

#### Hasil Pembelajaran Umum

Mahasiswa memahami beberapa bakteri patogen berbahaya dan cara pengujiannya dalam bahan.

#### Hasil Pembelajaran Khusus

Mahasiswa memahami beberapa bakteri patogen berbahaya dan cara pengujiannya dalam bahan, yaitu bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*.

#### Uraian Materi

Mikroorganisme patogen adalah mikroorganisme yang mampu menimbulkan penyakit. Mikroorganisme patogen dapat menyebabkan penyakit pada manusia melalui pangan yang dikenal sebagai *foodborne microbial disease*, baik secara infeksi, intoksikasi maupun toksikoinfeksi. Tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkan tergantung patogenitas mikroorganismenya dan sistem imun manusia (kemampuan tubuh untuk menahan serangan penyakit). Patogenitas sendiri merupakan kemampuan organisme untuk menyebabkan penyakit. Hingga hari ini, telah banyak kasus *foodborne microbial disease* yang dilaporkan, terutama di negara – negara berkembang. Mikroorganisme patogen pada pangan adalah bakteri, virus, protozoa dan parasit. Pada Bab ini akan dibahas tentang beberapa bakteri patogen pangan yang sering dilaporkan sebagai penyebab

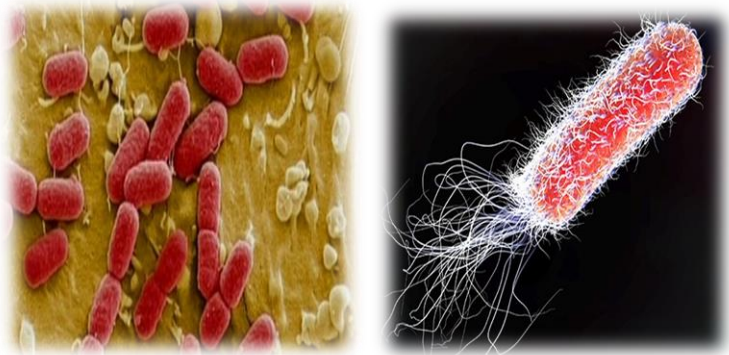
*foodborne microbial disease* berikut pengujiannya dengan merujuk pada standar yang berlaku.

Metode yang digunakan pada pengujian mikrobiologi sangat ditentukan oleh persyaratan yang dirujuk (diacu), umumnya pengujian dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian kualitatif terdiri dari beberapa tahapan, yaitu pengkayaan (*enrichment*), isolasi, identifikasi mikroorganisme dan interpretasi hasil (negatif per gram/ml atau negatif per 25 gram atau per 100 gram/ml). Identifikasi mikroorganisme patogen dapat dilakukan dengan cara konvensional maupun dengan pengujian cepat (*rapid test*). Pengujian kuantitatif (enumerasi) berupa penghitungan jumlah mikroorganisme dan interpretasi hasil berupa koloni (CFU, *coloni forming unit*) per ml/g atau koloni (CFU) per 100 ml.

### 1. *Escherichia coli*

*E. coli* adalah salah satu spesies enterik dominan dalam usus manusia dan merupakan flora normal dalam usus. Beberapa spesies bermanfaat bagi kesehatan dengan mencegah kolonisasi bakteri patogen berbahaya dalam usus dan berperan dalam pencernaan pangan dengan menghasilkan vitamin K dari bahan yang belum tercerna dalam usus besar. Bakteri ini dapat berubah menjadi oportunistik patogen bila hidup diluar usus, misalnya infeksi saluran kemih, infeksi luka dan mastitis. *E. coli* merupakan indikator dari kontaminan bersumber/bahan fekal. Bakteri ini cukup populer sebagai bakteri patogen karena menyebabkan gangguan perut dengan gejala demam dan diare. Dalam kondisi tertentu, diare dapat menyebabkan dehidrasi yang sangat berbahaya. Beberapa strain *E. coli* dapat menyebabkan gejala penyakit yang lebih berbahaya, seperti kegagalan ginjal.

*E. coli* termasuk famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang pendek (*cocobacil*), tidak membentuk spora, beberapa strain berkapsul, gram negatif, umumnya mempunyai fimbria dan bersifat motil (beberapa strain tidak motil) (Gambar 6). Dapat hidup secara aerob atau anaerob fakultatif, merupakan flora komensal yang paling banyak ditemukan pada usus manusia dan hewan. Sel *E. coli* berukuran 0,4 - 0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , tersusun tunggal atau berpasangan dengan flagela peritrikat. *E. coli* tumbuh pada suhu 10°C – 40°C dengan suhu optimum pertumbuhan pada 37°C. Dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,0 dengan pH optimum 7,0 - 7,5 dan Aw minimum 0,96. Bakteri ini sangat sensitif terhadap panas, sehingga dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi.



Gambar 6. Sel *E. coli* dengan SEM (*Scanning Electromagnetic Microscope*) (Sumber: [www.cba.ca](http://www.cba.ca) dan [www.biocote.com](http://www.biocote.com))

Terdapat enam pathotipe *E. coli* yang terkait sebagai penyebab diare, yaitu:

1. *Shiga toxin-producing E. coli* (STEC), juga dikenal sebagai *Verocytotoxin* (VTEC) atau *enterohemorrhagic*

- E. coli* (EHEC), merupakan *E. coli* yang paling banyak menyebabkan *foodborne microbial disease*.
2. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), biasanya penyebab *travellers diarrhea* atau diare yang dialami wisatawan pada negara-negara berkembang.
  3. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)
  4. *Enteraggregative E. coli* (EAggEC)
  5. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)
  6. *Diffusely adherent E. coli* (DAEC)

EHEC merupakan *E. coli* yang paling banyak menyebabkan infeksi melalui makanan mentah, tidak dimasak dengan cukup atau tercemar setelah pemasakan. EHEC yang paling berbahaya dan umum memproduksi toksin adalah *E. coli* O157:H7, karena infeksi yang disebabkannya dapat dengan mudah berakibat fatal seperti komplikasi *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) atau infeksi saluran urin yang dapat menyebabkan gagal ginjal pada anak-anak dan orang tua.

**Cara pengujian *E. coli*** dapat merujuk pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemarkan Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya. Pada prinsipnya pengujian ini dilakukan dengan tiga tahap utama, yaitu uji *Most Probable Number* (MPN), uji isolasi – identifikasi dan uji biokimia. Sampel uji dapat diambil dari makanan, minuman, air dan kotoran (feses).

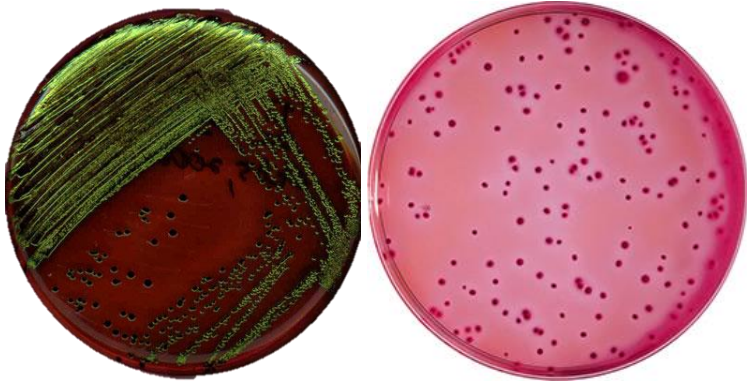
**Enumerasi *E. coli*** pada sampel dapat dilakukan dengan **metode MPN** baik seri tiga tabung ataupun seri lima tabung. Diawali dengan tahap homogenisasi atau penyiapan sampel dalam larutan pengencer. Tahap ini bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin. Larutan pengencer yang digunakan adalah *Buffered Pepton Water* (BPW) 0,1% atau larutan ringers

(garam fisiologis/NaCl 0,85%). Pada tahap ini diperoleh suspensi sampel dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Tahap selanjutnya adalah uji pendugaan, pada awal tahap ini dilakukan pengenceran yang bertujuan untuk mendapatkan sel yang tumbuh secara terpisah sehingga memudahkan dalam perhitungan. Tahap ini menggunakan media *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB) atau *Lactose Broth* (LB) yang berisi tabung Durham. Dilanjutkan dengan uji konfirmasi (peneguhan) menggunakan media *E. Coli Broth* (ECB) yang berisi tabung Durham, dengan memindahkan biakan dari tabung positif pada uji pendugaan. Pertumbuhan *E. coli* ditandai dengan terbentuknya asam dan gas sebagai hasil fermentasi laktosa. Terbentuknya asam dapat dilihat dari kekeruhan pada media, dan gas yang dihasilkan terlihat sebagai gelembung udara dalam tabung durham. Tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas sebanyak 10% atau lebih dari volume tabung Durham. Jumlah sel *E. coli* dihitung berdasarkan jumlah tabung positif yang selanjutnya dirujuk pada tabel MPN (Tabel *Mc Crady*).

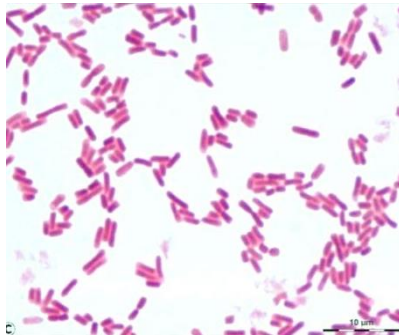
**Isolasi – identifikasi *E. coli*.** Tahap isolasi bertujuan untuk mendapatkan biakan murni dengan menggunakan media selektif, yaitu *Levine-Eosin Methyleen Blue Agar* (L-EMBA) atau *Violet Red Bile Agar* (VRBA). Identitas bakteri akan terlihat dari koloni spesifik yang terbentuk pada media. *E. coli* pada media L-EMBA terlihat sebagai koloni spesifik dengan warna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, dengan atau tanpa metalik (kilap logam) kehijauan dan membentuk koloni merah muda - ungu pada media VRBA (Gambar 7).

Selain isolasi dan identifikasi dengan media selektif, identifikasi *E. coli* juga dilakukan dengan pewarnaan Gram langsung terhadap koloni. Bakteri *E. coli* akan berwarna

merah muda dan berbentuk batang pendek di bawah mikroskop (Gambar 8).



Gambar 7. Koloni *E. coli* pada media L-EMBA dan VRBA (Sumber: ASM Microbe Library.org)



Gambar 8. Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri *E. coli* (Sumber: [www.bacterianinphotos.com](http://www.bacterianinphotos.com))

**Uji biokimia *E. coli*** dilakukan dengan uji IMVic, yang terdiri dari uji produksi *indole*, uji *Methyl Red* (MR), uji *Voges-Proskauer* (VP), dan uji *citrate*. Karakter biokimia setiap bakteri spesifik, enzim yang dihasilkan

bakteri akan mendegradasi senyawa tertentu yang terdapat dalam media uji. Dengan adanya penambahan indikator, maka metabolit akan terlihat secara visual yang ditunjukkan dengan perubahan warna. Tipe hasil IMViC untuk *E. coli* adalah +++ (95%) dan --- (5%) (Gambar 9).

**Uji produksi indole** untuk melihat kemampuan bakteri *E. coli* dalam mendegradasi asam amino triptofan. Terbentuknya lapisan (cincin) merah muda pada permukaan media setelah ditambahkan reagen Kovac menunjukkan kemampuan bakteri membentuk indole dari triptofan sebagai sumber karbon. **Uji MR** untuk melihat kemampuan bakteri *E. coli* dalam memfermentasi glukosa dan menghasilkan asam campuran (metilen glikol) yang akan menurunkan pH media hingga dibawah 4,4. Perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan reagen *Methyl Red* menunjukkan kemampuan bakteri menghasilkan asam. **Uji VP** untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa dan menghasilkan asetil metil karbinol (asetolin). Bakteri *E. coli* akan memberikan reaksi – pada uji ini, dimana tidak terbentuk warna merah muda eosin setelah ditambahkan larutan  $\alpha$ -naftol dan KOH 40%. **Uji citrate** untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang terdapat pada media, beberapa kelompok bakteri mempunyai enzim sitrat permiase. Media ini mengandung indikator biru bromtimol yang akan menyebabkan warna berubah menjadi biru jika reaksi + dan tetap berwarna hijau jika reaksi -. Bakteri *E. coli* akan memberikan reaksi – pada uji ini.

Hasil pengujian bakteri *E. coli* dapat dibandingkan dengan SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemarannya Mikroba Dalam Pangan. Sebagai contoh batas maksimum *E. coli* pada produk susu dan minuman berbasis susu adalah <

3 sel/ml, pada buah segar adalah < 20 sel/g dan pada buah olahah seperti manisan basah dan kering, buah dalam kaleng, santan, kelapa parut kering, nata, lempok dan keripik adalah < 3 sel/g.



Gambar 9. Reaksi Biokimia (IMViC) Bakteri *E. coli* (Sumber: BPOM, 2008)

## 2. *Salmonella sp.*,

*Salmonella* merupakan bakteri penyebab infeksi, sakit yang disebabkan dikenal sebagai *Salmonellosis*. Gejala *Salmonellosis* yang paling sering adalah gastroenteritis. Selain itu, beberapa species *Salmonella* dapat menyebabkan demam enterik seperti demam tifoid dan demam paratifoid serta infeksi lokal. Gejala lain berupa sakit perut, dehidrasi, infeksi enterik disertai diare, mual, muntah, hidung berdarah, bercak merah pada dada. Orang dewasa yang lebih tua, orang dengan sistem kekebalan tubuh lemah, dan anak balita memiliki risiko lebih tinggi untuk infeksi *Salmonella*. Infeksi pada kelompok ini bisa lebih parah,



mengakibatkan konsekuensi kesehatan jangka panjang atau kematian.

*Salmonella* tersebar luas di alam dengan manusia dan hewan sebagai inangnya. Keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan tersebut dapat berasal dari berbagai sumber. Secara umum kontaminasi dapat terjadi akibat penanganan dan proses pengolahan yang kurang memperhatikan aspek sanitasi dan higiene, kondisi lingkungan yang memungkinkan mikroorganisme cepat untuk tumbuh, serta sifat bahan pangan itu sendiri. Pada daging sapi, kontaminasi *Salmonella* dapat disebabkan oleh lingkungan tempat pemotongan hewan yang kurang bersih, peralatan yang digunakan dan air. *Salmonella* banyak terdapat pada telur, sayuran mentah, air, daging, buah-buahan, ikan, unggas dan kerang-kerangan. Seseorang dapat terinfeksi jika makanan yang dikonsumsi terkontaminasi oleh *Salmonella* selama proses pengolahan, tidak mencuci tangan dengan bersih setelah menggunakan toilet, atau memelihara hewan yang kemungkinan *carrier Salmonella*. Untuk menghindari bahaya yang ditimbulkan oleh *Salmonella*, seperti tifus, paratifus dan penyakit gastrointestinal, maka semua makanan haruslah bebas atau negatif dari bakteri tersebut. Oleh karena itu, keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan dapat dijadikan sebagai indikator keamanan suatu bahan pangan.

Terdapat lebih dari 2.500 serotipe *Salmonella* yang berbeda, namun kurang dari 100 menyebabkan sebagian besar infeksi pada manusia. Diantaranya adalah *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* dan *S. paratyphi C*, sebagai penyebab demam enterik. Semua genus *Salmonella* adalah patogen. *Salmonella* merupakan salah satu genus *Enterobacteriaceae* gram negatif, berbentuk batang, anaerobik fakultatif, bersifat motile dan mempunyai flagella

peritrikat (Gambar 10). Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 5 – 47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Bakteri ini tumbuh optimum pada kisaran pH netral, yaitu pH 6,5 - 7,5 dan dapat tumbuh pada pH 4,1 – 9,0. *Salmonella* umumnya dapat tumbuh pada bahan pangan dengan Aw 0,93 dengan Aw optimum 0,945 – 0,999. Bakteri ini tidak dapat berkompetisi secara baik dengan mikroorganisme lain pada bahan pangan, misalnya bakteri – bakteri pembusuk. *Salmonella* dapat memfermentasi glukosa dan menghasilkan gas, tapi tidak untuk laktosa dan sukrosa. Bakteri ini sangat sensitif terhadap panas, sehingga pemanasan merupakan cara yang paling banyak dilakukan untuk inaktivasi bakteri ini.

**Cara pengujian *Salmonella*** dapat merujuk pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya. Pada prinsipnya pengujian ini dilakukan menggunakan metode kualitatif pada media selektif dengan tahapan pra-pengayaan (*pre-enrichment*) dan pengayaan (*enrichment*), yang dilanjutkan dengan uji biokimia dan uji serologi (analisa antigenik atau imunologi). Bila diperlukan dapat pula dilakukan identifikasi DNA bakteri dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Disetiap proses pengujian direkomendasikan untuk selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Sampel uji dapat diambil dari makanan, minuman, air, darah dan kotoran (feses).

**Pra-pengayaan (*pre-enrichment*)**. Tahapan ini menggunakan media cair yaitu LB atau BPW dimana media ini mengandung cukup nutrisi dan merupakan media nonselektif. Walaupun kadang-kadang media ini belum tentu sesuai untuk semua jenis sampel. Tahap ini bertujuan untuk menyembuhkan atau menguatkan sel bakteri yang berada dalam kondisi sangat lemah atau sakit (*injury*).



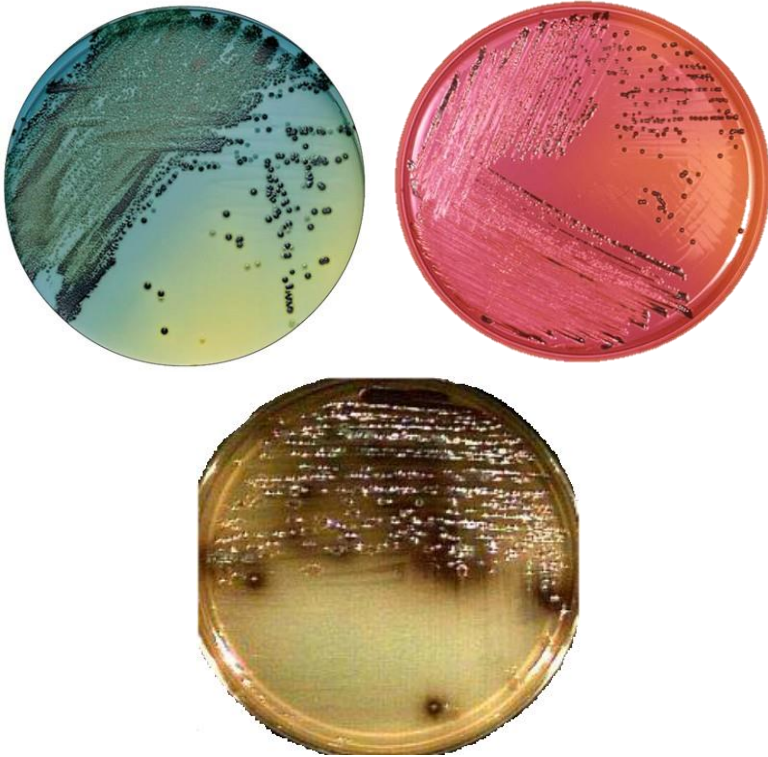
Gambar 10. Ilustrasi gambar pada komputer tiga dimensi (3D) bakteri *Salmonella typhi* (Sumber: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov))

**Pengayaan (*enrichment*).** Tahapan ini menggunakan media cair yaitu yaitu *Tetra Thionate Broth* (TTB) dan *Rappaport Vassiliadis* (RV), yang bertujuan untuk memberi kesempatan agar bakteri dapat tumbuh baik. Hal ini dilakukan karena sel bakteri umumnya berada dalam jumlah yang sangat sedikit dalam sampel. Pada media dapat ditambahkan inhibitor untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan bakteri lain.

**Tahap Isolasi dan Identifikasi.** Tahapan isolasi bertujuan untuk mendapatkan biakan murni dengan menggunakan media selektif – diferensial yang memungkinkan isolasi koloni berdasarkan karakter biokimia bakteri. **Isolasi** dapat menggunakan media *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Deoxycholate Agar* (XLDA) dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Identifikasi dilakukan berdasarkan pembentukan koloni spesifik pada media. *Salmonella* pada media HEA terlihat sebagai koloni spesifik dengan warna hijau kebiruan (hasil reaksi asam yang

dihasilkan bakteri *Salmonella* dengan pH indikator, yaitu Bromtimol biru dan Acid Fuchsin dengan atau tanpa titik hitam (yang menunjukkan produksi hidrogen sulfida, H<sub>2</sub>S). Pada media XLDA akan terlihat sebagai koloni merah muda atau translucent dengan atau tanpa titik mengkilat atau terlihat hampir seluruh koloni hitam. *Salmonella* akan memfermentasi *xylose* sehingga pH media akan turun yang terlihat dari reaksi dengan pH indikator, yaitu *phenol red*. Pada media BSA terlihat sebagai koloni dengan warna keabu-abuan atau kehitaman, kadang metalik, dengan media disekitar koloni berwarna coklat. Semakin lama waktu inkubasi akan berubah menjadi hitam, yang menunjukkan produksi H<sub>2</sub>S. Koloni *Salmonella* pada berbagai media isolasi dapat dilihat pada Gambar 11.

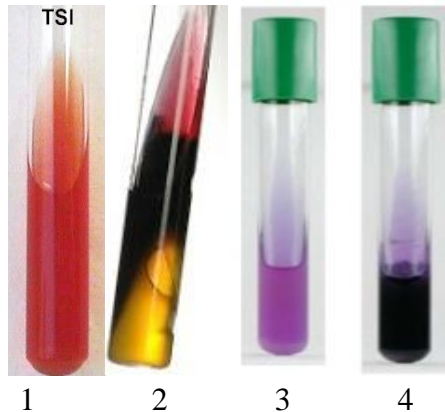
**Identifikasi** *Salmonella* dilakukan dengan menumbuhkan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) miring dan *Lysine Iron Agar* (LIA) miring. Pada bagian miring TSIA, warna media tetap merah atau tidak berubah (bersifat basa) karena *Salmonella* tidak dapat memfermentasikan laktosa atau sakarosa. Pada bagian dasar TSIA, *Salmonella* akan memfermentasikan glukosa sehingga sehingga pH media akan turun yang terlihat dari reaksi dengan pH indikator, yaitu *phenol red*. Warna media berubah dari ungu menjadi kuning dalam suasana asam. Terbentuknya warna hitam pada TSIA menunjukkan aktivitas bakteri yang menghasilkan H<sub>2</sub>S, dimana H<sub>2</sub>S ini bereaksi dengan besi dari media yang mengandung *ferrosulfida*. Pembentukan gas positif dapat terlihat dari terbentuknya rongga sampai terangkatnya media agar (Gambar 12). Pada bagian dasar dan miring LIA akan berwarna merah - ungu yang terbentuk sebagai hasil reaksi dari deaminasi *lysine* (Merck, 2012).



Gambar 11. *Salmonella* pada media selektif (HEA, XLDA dan BSA) (Sumber: <http://slideplayer.com>)

**Uji Biokimia.** Pengujian ini dilakukan untuk mengidentifikasi karakter biokimia suatu mikroorganisme. Uji yang dilakukan merujuk pada SNI 2897:2008 adalah uji *urease*, *indole*, *VP*, *MR*, *citrate*, *Lysine Decarboxylase Broth* (LDB), *Kalium Cyanida* (KCN) dan uji gula-gula meliputi *Phenol red dulcitol broth*, *Malonate broth*, *Phenol red lactose broth* dan *Phenol red Sucrose broth*. Interpretasi hasil uji biokimia *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 5,

sedangkan untuk penentuan non *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 6.



Gambar 12. Uji Identifikasi *Salmonella*: (1) TSIA yang tidak diinokulasi, (2) TSIA yang diinokulasi *Salmonella* (3) LIA yang tidak diinokulasi, (4) LIA yang diinokulasi *Salmonella*.

Selain secara konvensional, uji biokimia *Salmonella* dapat dilakukan menggunakan metode pengujian cepat (*rapid test*) dengan kit khusus seperti API20E (Gambar 13). Pada kit khusus tersebut, media sudah ditambahkan indikator/bahan kimia tertentu yang dapat menandai adanya hasil reaksi enzimatik dengan terbentuknya warna atau fluoresensi.



Gambar 13. Hasil Pengujian Biokimia *Salmonella* dengan API20E

**Tabel 5. Reaksi biokimia *Salmonella***

No	Uji substrat	Hasil Reaksi		
		Positif	Negatif	<i>Salmonella</i>
1	Glucosa (TSI)	Tusukan kuning	Tusukan merah	+
2	<i>Lysine Decarboxylase</i> (LIA)	Tusukan ungu	Tusukan kuning	+
3	H <sub>2</sub> S (TSI dan LIA)	Hitam	Tidak hitam	+
4	Urease	Pink sampai merah	Tetap kuning	-
5	<i>Lysine Decarboxylase Broth</i> (LDB)	Warna ungu	Warna kuning	+
6	<i>Phenol Red Dulcitol broth</i>	Warna kuning dan atau dengan gas	Tanpa berubah warna dan tanpa berbentuk gas	a)
7	KCN broth	Ada pertumbuhan	Tidak ada pertumbuhan	-
8	Malonate broth	Warna biru	Tidak berubah warna	b)
9	Uji Indole	Permukaan warna merah	Permukaan warna kuning	-
10	Uji <i>Polyvalent flagelar</i>	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	+
11	Uji <i>Polyvalent somatic</i>	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	+
12	<i>Phenol red lactose broth</i>	Warna kuning dengan/tanpa gas	Tidak terbentuk gas dan tidak berubah warna	-
13	<i>Phenol red sucrose broth</i>	Warna kuning dengan/tanpa gas	Tidak terbentuk gas dan tidak berubah warna	-
14	Uji <i>Vogest-Proskauer</i>	Pink sampai merah	Tidak berubah warna	-
15	Uji <i>Methyl red</i>	Merah menyebar	Kuning menyebar	+
16	Simmont citrate	Pertumbuhan, warna biru	Tidak ada pertumbuhan dan tidak ada perubahan	V

*Keterangan:*

- a) Mayoritas dari kultur *S. arizonae*: Negatif
- b) Mayoritas dari kultur *S. arizonae*: Positif

**Tabel 6. Kriteria Penentuan Non *Salmonella***

No	Test Subtrat	Hasil
1	Urease	Positif (pink-merah)
2	Lysine decarboxylase (LIA)	Negatif (jernih)
3	<i>Lysine Decarboxylase Broth</i> (LDB)	Negatif (jernih)
4	KCN Broth	Positif (ada pertumbuhan keruh)
5	Uji Indol	Positif (warna merah pada permukaan)
6	Uji <i>Polyvalent flagelar</i>	Negatif (tidak ada penggumpalan)
7	Uji <i>Polyvalent somatic</i>	Negatif (tidak ada penggumpalan)
8	<i>Phenol red lactose broth</i>	Positif (warna kuning ada/tidak ada gas)
9	<i>Phenol red Sucrose broth</i>	Positif (warna kuning ada/tidak ada gas)
10	Uji <i>Vogest-Proskauer</i>	Positif (warna pink sampai merah)
11	Uji <i>Methyl red</i>	Negatif (warna kuning menyebar)

*Keterangan :*

1. Test malone broth positif lebih lanjut untuk mengamati jika biakan tersebut *Salmonella Arizonae*
2. Jangan dibuang biakan positif jika biakan pada LIA menunjukkan reaksi bercirikan *Salmonella*, test lebih lanjut untuk mengamati jika species *Salmonella*

**Uji Serologi.** *Salmonella* tidak dapat dibedakan hanya dari sifat – sifat biokimia dan morfologi saja, sehingga perlu dilakukan identifikasi secara serologi. Pengujian ini dilakukan berdasarkan sifat-sifat antigennya. *Salmonella*



dan genus lain dalam familia *Enterobacteriae* mempunyai beberapa jenis antigen, diantaranya antigen O (somatik), antigen H (flagellar), antigen K (kapsul) dan Vi (Virulen). Pada SNI 2897:2008 pengujian serologi yang direkomendasikan menggunakan antiserum polivalen somatik (A-S) dan flagellar (F1 dan F2). Hasil pengujian dapat diamati secara visual seperti adanya aglutinasi (penggumpalan) atau presipitasi (pengendapan) atau terbentuknya warna. Pengujian dapat dilakukan dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan diamati menggunakan ELISA READER.

### **3. *Clostridium botulinum***

Merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan gejala intoksikasi (keracunan pangan). Keracunan botulinum dikenal sebagai *botulisme* yaitu gejala yang disebabkan tertelannya toksin yang diproduksi oleh *C. botulinum*. Toksin yang dihasilkannya tergolong neurotoksin, yaitu toksin yang menyerang susunan syaraf sehingga dapat menyebabkan kelumpuhan. Gejala *botulisme* biasanya muncul 12 jam atau lebih setelah mengkonsumsi bahan pangan yang terkontaminasi toksin botulinum, rata – rata 12 – 24 jam. Gejala awal adalah gangguan perut, mulas, muntah dan diare, berlanjut dengan serangan neurologi (syaraf), lemas, pusing, penglihatan berkunang-kunang, gangguan penglihatan dan lain-lain. Kelumpuhan (paralisis) dimulai pada tenggorokan (tak dapat bicara atau menelan), kemudian ke otot (tak dapat menggerakkan lidah dan leher) dan tekanan darah menurun. Kelumpuhan pada tenggorokkan dapat mempersulit pernafasan, hal inilah yang beresiko pada kematian. Produk pangan yang beresiko tinggi adalah makanan kaleng yang bersifat basa, dikemas kedap udara dan ikan asap. Tanda – tanda keberadaan

bakteri maupun toksinnya pada makanan kaleng antara lain adanya cairan jernih agak keputihan, kemasan yang retak, tutup dan sambungan kaleng yang kendor, atau timbulnya bau menyimpang.

*C. botulinum* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan ukuran panjang rata - rata 3,0 – 8,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,5 – 0,8  $\mu\text{m}$ . Merupakan bakteri pembentuk spora yang hidup secara anaerobik. Bakteri ini dapat tumbuh secara tunggal, berpasangan atau membentuk rantai pendek ataupun panjang (Gambar 14). Sebagian besar bersifat motile dan memiliki flagela peritrikus. Pertumbuhan sel dan pembentukan toksin akan terhambat pada pH di bawah 4,6 sedangkan germinasi spora terjadi pada kisaran pH 4,8 – 5,0. Pada kondisi basa, pertumbuhan sel dan pembentukan toksin akan terhambat pada pH 8,9 atau lebih. Suhu minimum pertumbuhan sel vegetatif (strain A dan B berkisar 10 – 11°C) umumnya lebih rendah daripada suhu minimum untuk germinasi sporanya (15°C) dengan suhu maksimum pertumbuhan sel 48°C. Spora *C. botulinum* sangat resisten terhadap panas, tahan pada suhu 100oC selama 3 – 5 jam, tetapi daya tahan ini berkurang pada pH rendah atau pada konsentrasi garam tinggi. *C. botulinum* bersifat saprofit, bakteri ini hanya tumbuh dan membentuk toksin pada bahan pangan atau benda – benda mati lainnya. Bakteri ini dapat memfermentasi glukosa dan maltosa, tetapi tidak untuk laktosa. Dapat memproduksi H<sub>2</sub>S dan mencairkan gelatin, tidak dapat mereduksi nitrat maupun memproduksi indol.

Toksin botulinum yang dihasilkan *C. botulinum* bersifat tidak tahan panas dan dapat diinaktivasi pada 80°C selama 15 menit. Toksin yang dihasilkan *C. botulinum* dapat dibedakan menjadi 7 tipe toksin (A-G, berdasarkan sifat antigeniknya), yaitu:

1. Toksin A, dapat menyebabkan botulisme pada manusia,
  2. Toksin B, lebih sering ditemukan daripada toksin A namun kurang beracun bila dibandingkan dengan toksin A,
  3. Toksin C<sub>1</sub> (C<sub>A</sub>) dan C<sub>2</sub> (C<sub>B</sub>), dapat menyebabkan intoksikasi pada ternak, namun tidak pada manusia,
  4. Toksin D, dapat menyebabkan intoksikasi pada ternak sapi,
  5. Toksin E, dapat menyebabkan intoksikasi pada manusia dan sering ditemukan pada ikan dan hasil – hasil olahan ikan,
  6. Toksin F, dapat menyebabkan intoksikasi pada manusia,
- Toksin G, sering ditemukan di tanah tetapi belum diketahui daya racunnya terhadap hewan dan manusia.



Gambar 14. Sel *C. botulinum*, sel batang (panah kuning) dan spora klostridia (panah biru) (Sumber: <http://www.angelfire.com>)

**Cara pengujian *C. botulinum*** dapat merujuk pada SNI 01-3775-2006 tentang Kernet Daging Sapi (*Corned Beef*). Prinsip pengujiannya dimana pertumbuhan *C. botulinum* pada *cooked meat* medium yang kemudian diamati adanya kekeruhan, produksi gas dan bau. Secara mikroskopis menghasilkan Gram + dengan spora oval subterminal. Pengujiannya terdiri dari beberapa tahap, yaitu tahap pengayaan (termasuk *heat shock*), seleksi dan isolasi. Guna identifikasi lengkap dapat dilanjutkan dengan uji biokimia dan imunologi serta uji toksikologi (neurotoksin). Sampel uji dapat berupa bahan pangan sumber intoksikasi botulinum, darah, muntah, cairan perut dan feses penderita botulisme.



Gambar 15. Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri *C. botulinum* (Sumber: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/botulinum.htm>).

**Pengayaan (*enrichment*).** Tahapan ini menggunakan media cair yaitu *Cooked Meat Broth* (CMB) dan *Trypticase Peptone Glucose Yeast Ekstract* (TPGY) *Broth*, bertujuan untuk memberi kesempatan agar bakteri dapat

tumbuh baik yang akan terlihat pada uji turbidimetri, adanya produksi gas dan bau busuk. Hal ini dilakukan karena sel bakteri umumnya berada dalam jumlah yang sangat sedikit dalam sampel. Pada media dapat ditambahkan inhibitor untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan bakteri lain. Pada tahap ini dapat juga dilakukan *heat shock* untuk memicu germinasi spora sel. Pengujian mikroskopik dengan fase kontras setelah pewarnaan Gram, kristal violet atau biru methilin (Gambar 15).

**Tahap Isolasi.** Tahapan isolasi bertujuan untuk mendapatkan biakan murni dengan menggunakan media selektif – diferensial yang memungkinkan isolasi koloni berdasarkan karakter biokimia bakteri. **Isolasi** dapat menggunakan media *Liver Veal Egg Yolk* atau *Anaerobic Egg Yolk* atau keduanya. Identifikasi dilakukan berdasarkan pembentukan koloni tipikal pada media. *C. botulinum* akan tumbuh menumpuk atau membentuk permukaan datar yang halus atau kasar dan biasanya menunjukkan penyebaran yang tidak beraturan ditepinya, dan berwarna – warni saat di uji dengan lampu (lapisan mutiara) (Gambar 16).



Gambar 16. Koloni *C. botulinum* pada media *Egg Yolk* (Sumber: <http://www.microbeworld.org>)

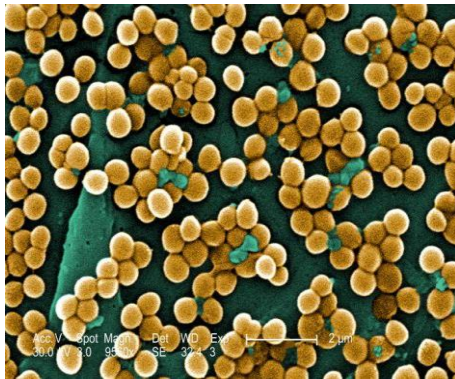
#### 4. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* merupakan salah satu bakteri patogen utama bagi manusia yang dapat memproduksi berbagai toksin sehingga menyebabkan berbagai gejala sakit. Mikroflora ini secara normal terdapat pada permukaan tubuh seperti pada kulit, rambut, hidung, mulut dan tenggorokan. Keberadaan *S. aureus* dalam bahan pangan bisa bersumber dari kulit, mulut atau rongga hidung pengolah pangan. Bakteri ini dapat ditularkan oleh manusia melalui kulit, bisul, jerawat dan infeksi tenggorokan ketika menangani pangan. Bila ditemukan dalam jumlah tinggi merupakan indikator dari kondisi sanitasi pangan yang tidak memadai. Oleh karena itu, praktek sanitasi dan higienitas sangat penting dalam proses pengolahan pangan.

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif, non-motil, katalase positif, kecil, berbentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran diameter 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora dan di bawah mikroskop tampak membentuk rantai pendek atau bergerombol tidak beraturan seperti anggur (Gambar 17). *S. aureus* adalah bakteri patogen yang dapat bertahan untuk waktu yang lama dalam kondisi kering. Bakteri ini umumnya membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulasi dan dapat memfermentasi glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam kondisi anaerob. Bakteri ini tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim lysozim, dan memproduksi enzim fosfatase dan deoksiribonuklease.

Umumnya *S. aureus* tumbuh pada suhu 7 – 45,5°C dengan suhu optimum pertumbuhan pada 35 – 37°C. Dapat tumbuh pada pH 4,5 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5. *S. aureus* adalah mesofilik, dapat hidup secara aerob maupun anaerob fakultatif. Pada bahan pangan berprotein yang tidak mengandung karbohidrat, bakteri ini tumbuh secara aerob,

sedangkan dengan adanya gula atau karbohidrat lainnya dalam jumlah tinggi, pertumbuhan akan distimulir ke arah anaerob. Sebagian besar strain *S. aureus* sangat toleran terhadap garam dan gula. *S. aureus* dapat tumbuh pada Aw rendah dibawah kondisi ideal pertumbuhannya 0,83 dengan Aw optimum > 0,99.



Gambar 17. Sel *S. aureus* dengan SEM (Sumber: <http://www.healthype.com/staphylococcus-aureus.html>)

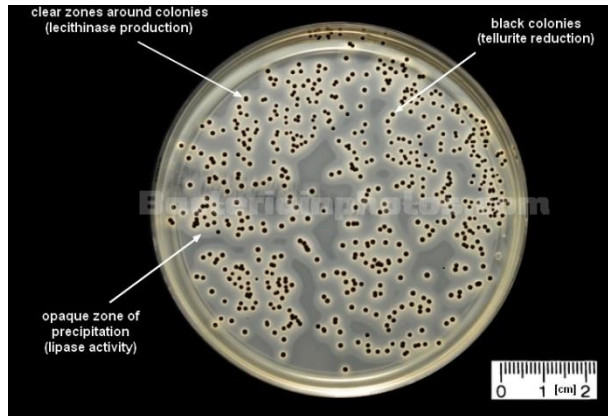
Beberapa species *S. aureus* mempunyai kemampuan untuk memproduksi enam tipe enterotoksin yaitu enterotoksin A, B, C1, C2, D dan E dengan tingkat toksisitas yang berbeda. Pengelompokan tersebut berdasarkan reaksi spesifik antigen – antibodi. Enterotoksin tersebut stabil pada suhu tinggi yang dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia bila terjadi intoksikasi. Sebagian besar kasus keracunan makanan disebabkan oleh enterotoksin A. Masa inkubasinya selama 1 – 8 jam dan gejala yang timbul akibat terkontaminasi bakteri ini antara lain mual, muntah, diare dan kram pada perut yang berlangsung 1 – 2 hari, tetapi jarang berakibat fatal.

**Cara pengujian *S. aureus*** dapat merujuk pada SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya. Pada prinsipnya pengujian ini dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu uji kuantitatif dengan enumerasi menggunakan hitungan cawan, identifikasi dengan pengecatan Gram dan uji koagulase. Pada kasus khusus dilakukan uji biokimia lengkap.

**Enumerasi *S. aureus*.** Diawali dengan tahap homogenisasi atau penyiapan sampel dalam larutan pengencer. Tahap ini bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin. Larutan pengencer yang digunakan adalah *Buffered Pepton Water* (BPW) 0,1% atau larutan ringers (garam fisiologis/NaCl 0,85%). Pada tahap ini diperoleh suspensi sampel dengan pengenceran  $10^{-1}$ , untuk kemudian diencerkan  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan seterusnya. Suspensi diinokulasikan pada media *Baird – Parker Agar* (BPA) yang sudah ditambahkan *Egg Yolk Tellurite*. Koloni *S. aureus* akan terlihat bundar, licin dan halus, cembung, berwarna abu – abu sampai hitam pekat, dikelilingi zona opak dengan atau tanpa areal bening (*clear zone*) (Gambar 18).

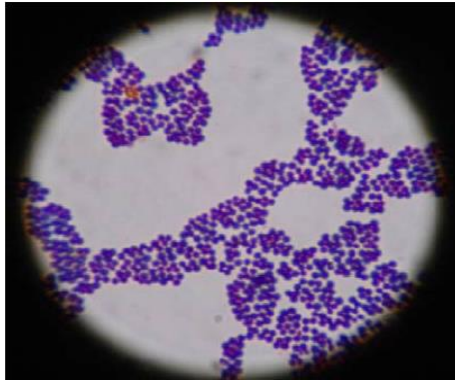
Timbulnya areal bening di sekelilingi koloni menunjukkan lesitinase positif. Karakteristik zona bening dan cincin di bentuk sebagai hasil dari lipolysis dan proteolisis. Reduksi dari tellurit ke tellurium akan membentuk warna hitam. Médium ini juga mengandung lithium dan kalium tellurit sebagai inhibitor pertumbuhan mikroorganisme selain *Staphylococcus*. Hasil perhitungan koloni pada BPA dilaporkan sebagai jumlah *S. aureus* per mililiter atau per gram.





Gambar 18. Koloni *S. aureus* Pada BPA (Sumber: [http://www.bacteriainphotos.com/baird\\_parker\\_agar.html](http://www.bacteriainphotos.com/baird_parker_agar.html))

**Identifikasi *S. aureus*** dilakukan dengan pengecatan Gram, hasil akan menunjukkan bakteri bentuk kokus berwarna ungu (Gram +), bergerombol seperti anggur atau terlihat hanya satu sel bakteri (Gambar 19). Selain itu juga dilakukan uji koagulase untuk melihat kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim koagulase, yaitu enzim yang dapat menggumpalkan plasma. Pada kasus khusus uji biokimia *S aureus* dapat dilakukan secara konvensional atau menggunakan metode pengujian cepat (*rapid test*) dengan kit khusus seperti API STAPH (Gambar 20), yang merupakan kombinasi uji biokimia standar dan uji fermentasi. Pada kit khusus tersebut, media sudah ditambahkan indikator/bahan kimia tertentu yang dapat menandai adanya hasil reaksi enzimatik dengan terbentuknya warna atau fluoresensi.



Gambar 19. Hasil Pewarnaan Gram Pada Bakteri *S. aureus*  
(Sumber: [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net))



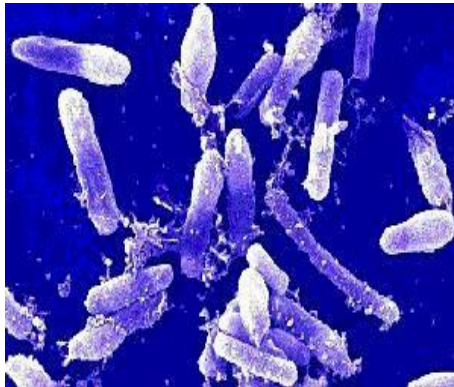
Gambar 20. Hasil Pengujian Biokimia *S aureus* dengan  
API STAPH (Sumber: [www.slideshare.net](http://www.slideshare.net))

## 5. *Bacillus cereus*

*B. cereus* merupakan penyebab intoksikasi yang dapat dibedakan ke dalam tiga kelompok berdasarkan sifat patogeniknya, yaitu strain penyebab diare, strain penyebab muntah dan strain non-enterotoksigenik. Penyebarannya terjadi karena penyebaran spora dalam jumlah besar yang terjadi pada pangan yang telah dimasak. Spora akan bergerminasi bila proses pendinginannya berlangsung lambat. Spora yang bergerminasi tersebut menghasilkan dua jenis toksin, yaitu toksin emetik (muntah) dan enterotoksin (toksin diare) pada pangan dengan suhu hangat. Pada kasus emetik, inkubasinya 1 – 5 jam yang disertai gejala mual dan

muntah, sedangkan pada kasus enterotoksin terjadi sakit perut, diare berair dan kram perut 4 – 16 jam setelah mengonsumsi pangan yang terkontaminasi. Sakit dapat berlangsung 12 – 24 jam hingga beberapa hari, tetapi jarang berakibat fatal.

*B. cereus* merupakan bakteri Gram +, berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan membentuk spora yang tahan terhadap panas dan radiasi. Sporangya tidak membengkak, berbentuk elips dan terletak sentris atau agak ke tengah sel (Gambar 21).



Gambar 21. Sel *B. cereus* dengan SEM (Sumber: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus\\_cereus](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_cereus)).

*B. cereus* hanya akan tumbuh secara baik bila substratnya mengandung karbohidrat, sedangkan bila substrat tidak mengandung karbohidrat pertumbuhannya akan sangat lambat dan tidak dapat membentuk toksin. Selain memproduksi enterotoksin, *B. Cereus* juga memproduksi fosfolipase, hemolisin dan metabolit – metabolit lainnya. Sifat – sifat lain dari *B. cereus* adalah tidak memproduksi

indol, reaksi VP +, dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, mereduksi nitrat, tidak memproduksi urease dan penisilinase, memproduksi asam dari glukosa, sukrosa, maltosa, trehalosa dan gliserol serta tahan terhadap lysozyme.

**Cara pengujian *B. cereus*** dapat merujuk pada SNI 3551:2012 tentang Mi Instan. Prinsip pengujiannya adalah pertumbuhan bakteri *B. cereus* ditandai dengan terbentuknya koloni eosin merah muda penghasil *lechitinase*, yang diikuti dengan uji penegasan pada berbagai media. Tahapan pengujiannya meliputi uji penetapan (enumerasi) dan uji penegasan dengan media *phenol red glucose broth*, *nitrate broth*, *modified VP*, tirosin agar, *lysozyme broth*, dan *mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP)* agar.



Gambar 22. *B. Cereus* pada MYP agar (Sumber: [www.slideshare.net](http://www.slideshare.net))

**Enumerasi *B. aureus*.** Diawali dengan tahap homogenisasi atau penyiapan sampel dalam larutan pengencer. Tahap ini bertujuan untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin. Larutan pengencer yang digunakan adalah *Butterfield's*

*Phosphate - Buffered Dilution Water* (BPB). Pada tahap ini diperoleh suspensi sampel dengan pengenceran  $10^{-1}$ , untuk kemudian diencerkan sampai  $10^{-6}$ . Koloni *B. cereus* akan terlihat berwarna eosin merah muda tang dikelilingi oleh zona endapan dengan *lechitinase* (Gambar 22).

**Penegasan *B. cereus*** dimulai dengan konfirmasi secara mikroskopis disertai pewarnaan Gram dengan hasil seperti pada Gambar 23. Pengujian dengan berbagai media dikatakan sebagai *B. cereus* apabila:

- a. Menghasilkan gram positif dengan spora yang tidak sebesar sporangium;
- b. Menghasilkan *lechitinase* dan tidak memfermentasikan manitol dalam media agar MYP;
- c. Tumbuh dan menghasilkan asam dari glukosa secara anaerobik;
- d. Mereduksi nitrat menjadi nitrit;
- e. Menghasilkan *acetylmethylcarbinol*;
- f. Menguraikan L-tirosin; dan
- g. Tumbuh dalam media yang mengandung lisozim 0,001%.



Gambar 23. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *B. cereus*  
(Sumber: [www.microbiologyinpictures.com](http://www.microbiologyinpictures.com))

## Rangkuman

Mikroorganisme patogen dapat menyebabkan penyakit pada manusia melalui pangan yang dikenal sebagai *foodborne microbial disease*, baik secara infeksi, intoksikasi maupun toksikoinfeksi. Beberapa bakteri patogen pangan yang sering dilaporkan sebagai penyebab *foodborne microbial disease* adalah *E. coli*, *Salmonella*, *C. Botulium*, *S. aureus* dan *B. cereus*.

*E. coli* adalah salah satu spesies enterik predominan dalam usus manusia dan merupakan flora normal dalam usus. Bakteri ini dapat berubah menjadi oportunistik patogen bila hidup diluar usus, misalnya infeksi saluran kemih, infeksi luka dan mastitis. Beberapa strain *E. coli* dapat menyebabkan gejala penyakit yang lebih berbahaya, seperti kegagalan ginjal. *E. coli* termasuk famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang (*bacil*), tidak berkapsul, gram negatif, umumnya mempunyai fimbria dan bersifat motil. Dapat hidup secara aerob atau anaerob fakultatif. EHEC merupakan *E. coli* yang paling banyak menyebabkan infeksi melalui makanan mentah, tidak dimasak dengan cukup atau tercemar setelah pemasakan. EHEC yang paling berbahaya dan umum memproduksi toksin adalah *E. coli* O157:H7. Cara pengujian *E. coli* dapat merujuk pada SNI 2897:2008 dengan tiga tahap pengujian utama, yaitu uji *Most Probable Number* (MPN), uji isolasi – identifikasi dan uji biokimia.

*Salmonella* merupakan bakteri penyebab infeksi, sakit yang disebabkannya dikenal sebagai *Salmonellosis*. Gejala *Salmonellosis* yang paling sering adalah gastroenteritis. Selain itu, beberapa species *Salmonella* dapat menyebabkan demam enterik seperti demam tifoid dan demam paratifoid

serta infeksi lokal. Terdapat lebih dari 2.500 serotipe *Salmonella* yang berbeda, namun kurang dari 100 menyebabkan sebagian besar infeksi pada manusia. Diantaranya adalah *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* dan *S. paratyphi C*, sebagai penyebab demam enterik. Semua genus *Salmonella* adalah patogen. *Salmonella* merupakan salah satu genus *Enterobacteriaceae* gram negatif, berbentuk batang, anaerobik fakultatif, bersifat motile dan mempunyai flagella peritrikat (Gambar 10). Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 5 – 47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Bakteri ini tumbuh optimum pada kisaran pH netral, yaitu pH 6,5 - 7,5 dan dapat tumbuh pada pH 4,1 – 9,0. *Salmonella* umumnya dapat tumbuh pada bahan pangan dengan Aw 0,93 dengan Aw optimum 0,945 – 0,999. Cara pengujian *Salmonella* dapat merujuk pada SNI 2897:2008 menggunakan metode kualitatif pada media selektif dengan tahapan pra pengayaan (*pre-enrichment*) dan pengayaan (*enrichment*), yang dilanjutkan dengan uji biokimia dan uji serologi.

*C. botulinum* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan gejala intoksikasi (keracunan pangan), yang dikenal sebagai *botulisme*. Toksin yang dihasilkannya tergolong neurotoksin, yaitu toksin yang menyerang susunan syaraf. *C. botulinum* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan ukuran panjang rata - rata 3,0 – 8,0 µm dan lebar 0,5 – 0,8 µm. Merupakan bakteri pembentuk spora yang hidup secara anaerobik. Bakteri ini dapat tumbuh secara tunggal, berpasangan atau membentuk rantai pendek ataupun panjang. Pertumbuhan sel dan pembentukan toksin akan terhambat pada pH di bawah 4,6 sedangkan germinasi spora terjadi pada kisaran pH 4,8 – 5,0. Pada kondisi basa, pertumbuhan sel dan pembentukan toksin akan terhambat pada pH 8,9 atau lebih. Suhu

minimum pertumbuhan sel vegetatif (strain A dan B berkisar 10 – 11°C) umumnya lebih rendah daripada suhu minimum untuk germinasi sporanya (15°C) dengan suhu maksimum pertumbuhan sel 48°C. *C. botulinum* bersifat saprofit, bakteri ini hanya tumbuh dan membentuk toksin pada bahan pangan atau benda – benda mati lainnya. Toksin botulinum yang dihasilkan *C. botulinum* bersifat tidak tahan panas dan dapat dinaktivasi pada 80°C selama 15 menit. Toksin yang dihasilkan *C. botulinum* dapat dibedakan menjadi 7 tipe toksin (A – G, berdasarkan sifat antigeniknya. Cara pengujian *C. botulinum* terdiri dari beberapa tahap, yaitu tahap pengayaan (termasuk *heat shock*), seleksi dan isolasi, identifikasi (dengan uji biokimia dan imunologi) dan uji toksikologi (neurotoksin).

*S. aureus* merupakan salah satu bakteri patogen utama bagi manusia yang dapat memproduksi berbagai toksin sehingga menyebabkan berbagai gejala sakit. Keberadaan *S. aureus* dalam bahan pangan bisa bersumber dari kulit, mulut atau rongga hidung pengolah pangan. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif, non-motil, katalase positif, kecil, berbentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran diameter 0,5 – 1,5 µm, tidak membentuk spora dan di bawah mikroskop tampak membentuk rantai pendek atau bergerombol tidak beraturan seperti anggur. Bakteri ini adalah mesofilik, dapat hidup secara aerob maupun anaerob fakultatif. Beberapa species *S. aureus* mempunyai kemampuan untuk memproduksi enam tipe enterotoksin yaitu enterotoksin A, B, C1, C2, D dan E dengan tingkat toksisitas yang berbeda. Cara pengujian *S. aureus* dapat merujuk pada SNI 2897:2008 dengan beberapa tahapan, yaitu uji kuantitatif dengan enumerasi menggunakan hitungan cawan, identifikasi dengan pengecatan Gram dan uji koagulase.



*B. cereus* merupakan penyebab intoksikasi yang dapat dibedakan ke dalam tiga kelompok berdasarkan sifat patogeniknya, yaitu strain penyebab diare, strain penyebab muntah dan strain non-enterotoksigenik. Spora *B. cereus* yang bergerminasi menghasilkan dua jenis toksin, yaitu toksin emetik (muntah) dan enterotoksin (toksin diare). *B. cereus* merupakan bakteri Gram +, berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan membentuk spora yang tahan terhadap panas dan radiasi. Sporanya tidak membengkak, berbentuk elips dan terletak sentris atau agak ke tengah sel. Cara pengujian *B. cereus* dapat merujuk pada SNI 3551:2012 tentang Mi Instan, dimana pertumbuhan bakteri *B. cereus* ditandai dengan terbentuknya koloni eosin merah muda penghasil *lechitinase*, yang diikuti dengan uji penegasan pada berbagai media.

### Latihan Soal

Jawablah pertanyaan-pertanyaan dibawah ini dengan singkat dan jelas!

1. Jelaskan ciri bakteri *E. coli*!
2. Sebutkan tahapan pengujian *E. coli* menurut SNI!
3. Sebutkan gejala *Salmonellois*, dan strain utama penyebab demam enterik!
4. Sebutkan tahapan pengujian *Salmonella* menurut SNI!
5. Sebutkan gejala botulisme!
6. Sebutkan tahapan pengujian *C. botulinum*!
7. Jelaskan ciri bakteri *S. aureus*!
8. Sebutkan identifikasi *S. aureus* pada media BPA dan setelah pengecatan Gram!
9. Jelaskan ciri bakteri *B. cereus*!
10. Sebutkan identifikasi hasil uji penegasan *B. cereus*!

## Bab III Pengendalian Mikroorganism

### Hasil Pembelajaran Umum

Mahasiswa menguasai arti penting pengendalian mikroorganism

### Hasil Pembelajaran Khusus

Mahasiswa menguasai arti penting pengendalian mikroorganism, pengendalian mikroorganism secara fisik dan secara kimia termasuk penggunaan bahan alami. Mahasiswa memahami tentang *hurdle concept* dan metode pengujian potensi antimikroba berbasis bahan alami.

### Uraian Materi

Pengendalian mikroorganism merupakan upaya yang sangat penting. Pengendalian mikroorganism pada prinsipnya merupakan semua kegiatan yang dapat mencegah, menghambat, dan menghentikan pertumbuhan mikroorganism. Secara umum alasan utama dilakukannya pengendalian mikroorganism adalah untuk:

- a. Mencegah penyebaran penyakit dan infeksi. Dalam bidang pangan, upaya ini dilakukan terutama untuk mengendalikan mikroorganism patogen penyebab *foodborne microbial disease*.
- b. Memasmi mikroorganism pada inang yang terinfeksi. Hal ini biasanya dilakukan dalam upaya mengobati penderita *foodborne microbial disease*, di bidang kesehatan dilakukan dengan pemberian antibiotik pada penderita.
- c. Mencegah pembusukan dan kerusakan oleh mikroorganism. Dalam bidang pangan, upaya ini

dilakukan terkait sifat bahan pangan yang *perishable* dengan tujuan memperpanjang umur simpan bahan pangan.

Dalam bahasan ini, pengendalian mikroorganisme pada bahan pangan dapat dilakukan dengan mengatur kondisi lingkungan mikroorganisme, baik dengan perlakuan fisik atau kimia. Perlakuan tersebut memiliki mekanisme inaktivasi mikroorganisme yang sama, yaitu dengan menyebabkan denaturasi protein atau penghancuran protein sel mikroorganisme yang bila berlanjut akan menyebabkan kematian sel (*lysis*). Seperti diketahui, protein merupakan komponen utama penyusun sel mikroorganisme baik pada komponen struktural seperti dinding sel, maupun komponen fungsional seperti DNA dan enzim. Pada bakteri pembentuk spora, apabila terjadi kerusakan pada mantel spora, maka akan mengakibatkan spora tersebut tidak dapat bergerminasi atau tumbuh.

Proses pengendalian mikroorganisme pada bahan pangan, berdasarkan mekanisme kerjanya dapat dikelompokkan menjadi:

- a. Mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Dapat dilakukan dengan mengatur kondisi lingkungannya sehingga mikroorganisme tidak dapat tumbuh, contohnya adalah perlakuan sanitasi
- b. Menghambat atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme. Dapat dilakukan dengan mengatur kondisi lingkungannya dalam bentuk perlakuan fisik atau kimia. Perlakuan fisik yang diberikan dapat berupa pendinginan dan pengaturan atmosfer lingkungan pangan, sedangkan perlakuan kimia yang diberikan dapat berupa penggunaan bahan pengawet.
- c. Menghentikan atau menghancurkan semua bentuk kehidupan. Perlakuan yang paling efektif untuk

menghentikan pertumbuhan mikroorganisme adalah perlakuan fisik, baik berupa pemanasan (pasteurisasi dan sterilisasi) dan iradiasi.

## 1. Pengendalian Fisik

### A. Suhu Tinggi

Suhu tinggi atau panas merupakan faktor penting untuk menghentikan pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Mekanisme inaktivasi perlakuan suhu tinggi adalah dengan menyebabkan denaturasi komponen fungsional sel yaitu enzim yang terdapat dalam sel, denaturasi komponen struktural yaitu dinding sel dan pecahnya molekul-molekul organik kompleks lainnya. Aplikasi suhu tinggi yang dapat diterapkan untuk mengendalikan mikroorganisme adalah blansir (*blanching*), pasteurisasi dan sterilisasi.

**Blansir** adalah pemberian panas (pemanasan) pada bahan pangan dengan air panas secara langsung (perebusan) atau uap panas (pengukusan) pada suhu kurang dari 100°C dalam waktu singkat, biasanya hanya sekitar 5 menit ( $\pm 3 - 5$  menit). Walaupun bukan untuk tujuan pengawetan, proses ini sering dilakukan pada bahan pangan sebelum dikalengkan, dikeringkan atau dibekukan. Blansir bertujuan untuk menginaktivasi enzim yang tidak diinginkan yang mungkin dapat merubah warna, tekstur, citarasa maupun nilai nutrisi bahan, mengurangi jumlah mikroorganisme awal, mempertahankan warna bahan serta menghindari produk yang kamba sehingga memudahkan pengemasan dan melepaskan air yang terperangkap dalam jaringan. Proses blancing yang lebih disarankan adalah penggunaan uap panas, karena dengan cara ini pelarutan zat nutrisi khususnya vitamin oleh air yang berlebihan dan oksidasi dapat dikurangi.

**Pasteurisasi** adalah pemanasan pada bahan pangan pada suhu kurang dari 100°C dengan waktu yang bervariasi mulai dari beberapa detik sampai beberapa menit, tergantung suhu yang digunakan. Tujuan utama pasteurisasi adalah untuk mematikan mikroorganisme perusak dan mikroorganisme patogen nonspora. Pasteurisasi secara umum dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

- Pemanasan pada suhu rendah dengan waktu yang lama (LTLT = *Low Temperature Long Time*). LTLT dilakukan pada suhu 62,8°C selama 30 menit
- Pemanasan pada suhu yang lebih tinggi dengan waktu yang singkat (HTST = *High Temperature Short Time*). HTST dilakukan pada suhu 71,7°C selama 15 detik.

Pasteurisasi pada susu dapat dilakukan dengan suhu yang lebih tinggi dengan waktu yang lebih singkat, yaitu pada suhu 90°C selama 0,5 detik atau 100°C selama 0,01 detik. Perlakuan ini mampu membunuh mikroorganisme tahan panas nonspora yang bersifat patogen seperti *Mycobacterium tuberculosis* dan *Coxiella burnetti* (pada susu).

Aplikasi suhu tinggi lainnya adalah sterilisasi, **sterilisasi** merupakan pemanasan bahan atau alat pada suhu tinggi yang dapat mematikan semua mikroorganisme. Sterilisasi dibedakan menjadi dua yaitu sterilisasi mutlak (absolut) dan sterilisasi komersial. Sterilisasi mutlak merupakan pemanasan yang mengakibatkan musnahnya segala macam kehidupan yang ada pada bahan atau alat yang dipanaskan, dengan kata lain bebas dari mikroorganisme. Sterilisasi mutlak diaplikasikan di laboratorium dan bidang medis. Sterilisasi dapat dilakukan menggunakan uap panas bertekanan pada suhu 121°C selama 15 detik pada tekanan 15 lbs atau menggunakan udara panas pada suhu 160 – 170°C selama 2 jam. Pada umumnya sterilisasi dengan uap

panas bertekanan menggunakan autoklaf lebih efektif daripada sterilisasi dengan udara panas menggunakan oven. Sterilisasi komersial dilakukan untuk membunuh mikroorganisme pembusuk berspora (khususnya yang anaerob) tergantung jenis bahan pangan, jenis media dan jenis serta ukuran kemasan pangan. Sterilisasi komersial dapat diartikan bahan pangan telah mengalami proses sterilisasi dimana tidak ada lagi mikroorganisme hidup, akan tetapi mungkin masih terdapat spora bakteri yang bersifat dorman. Sterilisasi susu yang banyak diaplikasikan adalah UHT (*Ultra High Temperatures*) pada suhu 140 – 150°C selama beberapa detik, selanjutnya susu steril tersebut dapat disimpan pada suhu ruang (28 – 30°C) hingga 8 minggu. Pada makanan kaleng, sterilisasi komersial bertujuan untuk membunuh mikroorganisme tahan panas berspora yang bersifat patogen yaitu *Clostridium botulinum* pada suhu 121,1°C selama 2,52 menit. Faktor – faktor yang mempengaruhi ketahanan mikroorganisme terhadap suhu tinggi adalah sebagai berikut:

- **Air**, ketahanan terhadap panas mikroorganisme akan meningkat dengan menurunnya kandungan air (aktivitas air). Keberadaan air akan mempercepat terjadinya denaturasi protein. Pemanasan dengan uap panas menyebabkan lepasnya ikatan gugus SH dan pemanasan menyebabkan pecahnya ikatan peptida yang mana pada kondisi kering membutuhkan energi yang lebih banyak dan kondisi ini menyebabkan mikroorganisme lebih tahan panas.
- **Lemak**, ketahanan terhadap panas mikroorganisme akan meningkat dengan adanya lemak. Adanya lemak pada bahan pangan akan melindungi sel mikroorganisme. Rantai lemak panjang memiliki

resistensi yang tinggi terhadap panas dibandingkan dengan rantai yang pendek.

- **Karbohidrat**, ketahanan terhadap panas mikroorganisme akan meningkat dengan adanya karbohidrat. Gula akan mengikat air bahan pangan sehingga  $A_w$  turun, kondisi ini meningkatkan ketahanan panas sel mikroorganisme.
- **Protein**, ketahanan terhadap panas mikroorganisme akan meningkat selama pemanasan dengan adanya protein. Partikel protein berbentuk koloid yang menyelubungi sel mikroorganisme menyebabkan sel terlindungi dari pengaruh panas.
- **Keasaman**, ketahanan tertinggi sel mikroorganisme berada pada kondisi pH optimumnya. Umumnya memiliki resistensi paling kuat terhadap panas pada kisaran pH 7,0 yang merupakan pH optimum pertumbuhan kebanyakan mikroorganisme. Sensitivitas sel pada panas akan meningkat jika pH naik atau turun dari pH optimum pertumbuhannya.
- **Garam**, ketahanan terhadap panas mikroorganisme terhadap garam tergantung jenis dan konsentrasi garam serta faktor lain. Secara umum, garam NaCl dapat menurunkan  $A_w$  sehingga meningkatkan ketahanan sel mikroorganisme terhadap panas, sebaliknya garam fosfat dapat meningkatkan  $A_w$  yang akan menurunkan ketahanan terhadap panas.
- **Jumlah sel mikroorganisme**, ketahanan meningkat dengan semakin besarnya jumlah sel mikroorganisme. Sel terlindungi oleh adanya produksi substansi pelindung yang disekresikan oleh sel mikroorganisme tersebut.
- **Umur atau fase pertumbuhan** sel mikroorganisme, ketahanan panas tertinggi sel adalah saat sel berada

pada fase statis dan ketahanan panas terendah saat sel berada pada fase logaritmik.

- **Suhu pertumbuhan**, ketahanan tertinggi sel mikroorganisme terhadap panas adalah pada suhu optimum pertumbuhannya. Mikroorganisme psikrofilik paling sensitif terhadap panas, diikuti mikroorganisme mesofilik dan mikroorganisme termofilik. Ketahanan mikroorganisme terhadap panas juga dipengaruhi suhu pemanasan dan lama waktu aplikasi panas.
- **Senyawa penghambat**, ketahanan sel mikroorganisme terhadap panas akan menurun dengan adanya senyawa antibiotik, SO<sub>2</sub> dan senyawa/komponen antimikroba lainnya.
- **Perlakuan lain**, ketahanan mikroorganisme terhadap panas dipengaruhi aplikasi perlakuan lain seperti adanya perlakuan ultrasonik sebelum/selama pemanasan akan menurunkan ketahanan sel mikroorganisme.
- **Jenis mikroorganisme**, kelompok bakteri pembentuk spora lebih tahan terhadap panas dibandingkan bakteri nonspora. Umumnya bakteri Gram + cenderung lebih tahan terhadap panas daripada bakteri Gram -. Sementara itu kapang dan khamir cukup sensitif terhadap panas. Spora kapang cenderung sedikit lebih tahan panas dibandingkan dengan miselia kapang.

## B. Suhu Rendah

Penurunan suhu mengakibatkan terhambatnya laju pertumbuhan sel mikroorganisme dan reaksi – reaksi kimia dan biokimia dalam bahan pangan. Aktivitas mikroorganisme akan mengalami penurunan di atas suhu



beku dan umumnya terhenti pada suhu dibawah titik beku. Mekanisme inaktivasi pada suhu rendah adalah dengan mempengaruhi reaksi metabolisme dalam sel mikroorganisme yang dikatalis oleh enzim. Kecepatan reaksi tersebut sangat dipengaruhi oleh suhu, dimana pada suhu rendah, maka aktivitas enzim juga rendah. Aplikasi suhu rendah yang dapat diterapkan untuk pengendalian mikroorganisme adalah: *chilling*, pendinginan dan pembekuan.

**Chilling** merupakan penyimpanan dingin bahan pangan dalam lemari pendingin dengan kisaran suhu 10-15°C. Suhu ini sesuai untuk penyimpanan sayuran dan buah-buahan. Bahan pangan yang disimpan pada kondisi ini umumnya dapat dirusak oleh kelompok psikrofilik, yaitu kelompok mikroorganisme yang tumbuh baik pada suhu 0°C dengan suhu optimum pertumbuhannya <15°C.

**Pendinginan** adalah penyimpanan dingin bahan pangan dalam lemari pendingin pada kisaran suhu 0-7°C, walaupun idealnya tidak lebih dari 4,4°C. Suhu ini sesuai untuk menyimpan bahan pangan segar seperti daging, daging unggas, *sea food* dan pangan olahannya. Bahan pangan tersebut umumnya dirusak mikroorganisme psikrotropik, yaitu mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu 0-7°C tetapi tidak membutuhkan suhu tersebut untuk pertumbuhan optimumnya dan pertumbuhan koloninya terlihat pada hari ke-7 hingga ke-10 penyimpanan. Pada pendinginan, kelompok bakteri mesofilik dan termofilik mengalami kerusakan *sublethal* dan banyak yang mati selama penyimpanan suhu rendah (di atas titik beku).

**Pembekuan** adalah penyimpanan dingin bahan pangan dengan suhu kurang dari 0°C, umumnya dilakukan pada suhu kurang dari -18°C atau lebih rendah. Pembekuan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pembekuan cepat dan

pembekuan lambat. Dikatakan pembekuan cepat jika dalam 30 menit dapat mencapai suhu  $20^{\circ}\text{C}$  dan kristal es yang dihasilkan berukuran kecil. Sebaliknya pembekuan lambat jika untuk mencapai suhu  $20^{\circ}\text{C}$  dibutuhkan waktu selama 3-72 jam dan kristal es yang dihasilkan berukuran besar. Pembekuan mempengaruhi sel mikroorganisme dengan menyebabkan kematian tiba-tiba (tergantung jenis mikroorganisme), sel yang bertahan hidup setelah proses pembekuan akan berangsur mati bila disimpan dalam kondisi beku selanjutnya penurunan jumlah sel dibawah titik beku relatif cepat (terutama pada suhu  $-2^{\circ}\text{C}$ ) dan pada suhu yang lebih rendah yaitu  $-20^{\circ}\text{C}$  penurunan jumlah sel lebih lambat. Ketahanan mikroorganisme terhadap pembekuan sangat tergantung dari jenis, cara pembekuan, komposisi bahan pangan dan lamanya proses pembekuan. Secara umum mikroorganisme bentuk kokus lebih tahan dibandingkan mikroorganisme berbentuk jenis batang Gram negatif.

Mekanisme kerusakan sel mikroorganisme akibat pembekuan antara lain disebabkan:

- Air bebas akan membentuk kristal es sehingga sel akan mengalami dehidrasi. Saat pembekuan, terjadi peningkatan viskositas komponen sel dan perubahan koloidal dari protoplasma sel.
- Sel kehilangan gas dari sitoplasma seperti  $\text{O}_2$  dan  $\text{CO}_2$  sehingga mempengaruhi proses respirasi sel dan terjadi proses oksidatif.
- Terjadi perubahan pH, baik kenaikan maupun penurunan hingga 0,3-2,0 unit.
- Mengakibatkan denaturasi protein karena pecahnya ikatan dalam lipoprotein
- Terjadi perubahan suhu berupa kejutan suhu secara mendadak. Mikroorganisme lebih banyak mati apabila

penurunan suhu di atas suhu beku dilakukan dengan mendadak (pembekuan cepat).

- Terjadi kerusakan metabolit. Saat bahan pangan dilelehkan (*thawing*) dapat terjadi kerusakan sel yang parah (*sublethal*) berupa kerusakan sel (dinding dan membran sel), pecahnya rantai DNA, degradasi ribosoma RNA dan inaktivasi enzim. Beberapa kerusakan tersebut dapat pulih kembali (*irreversible*), sehingga mikroorganisme tetap bertahan hidup.

### C. Pengendalian Aktivitas Air (Aw)

Pengendalian Aw berpengaruh terhadap tekanan osmotik sel. Penurunan nilai Aw bahan pangan dilakukan hingga berada di luar kisaran dari faktor penyebab kerusakan bahan pangan. Aw rendah merugikan mikroorganisme karena ketiadaan air bebas menyebabkan mikroorganisme tidak dapat melakukan aktivitasnya, yang berujung pada kematian sel. Pangan dengan Aw rendah relatif lebih aman dari pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan mempunyai umur simpan yang lebih panjang. Aplikasi pengendalian Aw yang dapat dilakukan adalah: pengeringan, evaporasi, pembekuan dan penambahan bahan pengikat untuk pengaturan tekanan osmotik bahan seperti penambahan gula dan garam. Faktor – faktor yang mempengaruhi ketahanan mikroorganisme terhadap aplikasi pengendalian Aw adalah kondisi proses, kondisi bahan pangan dan kondisi mikroorganisme.

**Kondisi proses.** Pada proses pengeringan dan evaporasi terjadi penguapan air bahan yang menyebabkan menurunnya jumlah air bebas (penurunan Aw) yang terdapat dalam bahan pangan. Demikian pula penambahan bahan pengikat seperti gula dan garam dengan konsentrasi tinggi menyebabkan penurunan jumlah air bebas (penurunan Aw).

Nilai Aw selalu lebih rendah dari jumlah total kadar air bahan pangan.

**Kondisi pangan.** Nilai Aw minimal bahan pangan bervariasi tergantung dari karakteristik pangan dan lingkungannya. Saat terjadi fluktuasi suhu selama penyimpanan bahan pangan, maka kemungkinan akan terjadi kondensasi air yang dapat membasahi bahan pangan. Kondisi ini memungkinkan mikroorganisme dapat tumbuh. Komposisi bahan pangan juga mempengaruhi tingkat kematian mikroorganisme walaupun nilai Aw tetap. Beberapa jenis mikroorganisme dapat bertahan pada bahan pangan dengan Aw rendah karena berada dalam kondisi dorman. Bila kondisi berubah, dimana terjadi peningkatan Aw bahan maka mikroorganisme akan segera menyesuaikan diri, selanjutnya melakukan metabolisme sel dan berkembang biak. Beberapa bahan pangan memiliki kadar air tinggi namun nilai Aw-nya relatif rendah, yaitu pangan semi basah (*intermediet moisture foods/IMF*). Pangan jenis ini memiliki terdapat komponen yang mampu mengikat air seperti gula atau garam dalam jumlah cukup tinggi, contohnya produk dodol, permen, susu kental manis dan madu.

**Kondisi mikroorganisme.** Nilai Aw untuk pertumbuhan mikroorganisme bervariasi tergantung jenis mikroorganisme dan zat terlarut pada bahan pangan. Kapang dan khamir dapat tumbuh pada Aw yang lebih rendah dibandingkan bakteri. Bakteri umumnya tumbuh pada Aw lebih besar dari 0,90 dan kondisi optimum pertumbuhannya pada Aw 0,98. Pertumbuhan mikroorganisme akan menurun sebanding menurunnya Aw. Khusus untuk mikroorganisme halofilik, osmofilik dan xerofilik dapat tumbuh lebih baik pada nilai Aw yang rendah.

## D. Iradiasi

Iradiasi merupakan istilah umum yang umum digunakan untuk semua jenis energi yang dipancarkan tanpa melalui media. Iradiasi sering disebut sebagai sterilisasi tanpa aplikasi panas pada bahan pangan. Beberapa jenis radiasi mampu bersifat *lethal* (mematikan) bagi sel mikroorganisme maupun sel organisme lain, seperti memusnahkan kapang, khamir, bakteri dan spora, virus, cacing maupun serangga dan larva. Ditinjau dari daya tahannya, kapang lebih sensitif terhadap sinar gamma dibanding bakteri. Iradiasi jenis ini merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik (yaitu radiasi ultraviolet (UV), sinar gamma dan sinar X) serta sinar-sinar katode (elektron berkecepatan tinggi). Metode yang banyak diaplikasikan pada industri pangan adalah sinar UV dan sinar gamma ( $\gamma$ ).

**Sinar UV** atau biasa disebut sebagai lampu germisidal merupakan salah satu metode yang banyak diaplikasikan pada industri pangan. Sinar UV merupakan spektrum elektromagnetik meliputi radiasi dari 15 – 390 nm. Metode ini hanya untuk mengendalikan mikroorganisme yang berada dipermukaan benda yang secara langsung terkena paparan sinar UV. Pada industri pangan digunakan untuk menjaga permukaan baik pada meja, dinding dan rak pembuatan kue, buah, daging, ikan sebelum dikemas dari pengaruh kontaminasi udara dan lingkungan selama penanganan, serta proses pengolahan pangan tersebut. Mekanisme inaktivasi dari sinar UV adalah dengan memutasi asam nukleat pada sel yang berujung pada kematian sel. Mikroorganisme yang dapat dimusnahkan adalah mikroorganisme yang sensitif terhadap sinar UV.

**Sinar gamma ( $\gamma$ )** merupakan proses iradiasi paling murah untuk diaplikasikan pada pengawetan bahan pangan. Radiasi sinar gamma dipancarkan dari isotop - isotop

radioaktif tertentu seperti cobalt ( $^{60}\text{Co}$ ) dan cesium ( $^{137}\text{Cs}$ ). Sinar gamma memiliki daya tembus lebih besar dan bersifat mematikan organisme termasuk mikroorganisme. Mekanisme inaktivasi dari sinar gamma adalah dengan menyebabkan lepasnya elektron dari DNA mikroorganisme yang mengakibatkan kerusakan molekul yang berujung pada kematian sel.

Dosis iradiasi dinyatakan dengan satuan rad dan Gray (Gy), 1 rad diartikan sebagai jumlah radiasi ionisasi yang menghasilkan penyerapan 100 erg energi per gram bahan yang diiradiasi. Saat ini satuan yang banyak digunakan adalah Gray, dimana 1 Gy sama dengan 100 rad. Dosis yang dibutuhkan untuk mematikan organisme berbeda-beda, tergantung jenis organismenya. *Lethal Dose* untuk serangga sebesar 0,1 – 1 kGy, sel vegetatif kapang, khamir dan bakteri sebesar 0,5 – 10 kGy, spora bakteri sebesar 10 – 50 kGy dan untuk mematikan virus sebesar 10 – 200 kGy. Faktor – faktor yang mempengaruhi aplikasi iradiasi adalah kondisi proses, kondisi pangan dan kondisi mikroorganisme.

**Kondisi proses.** Pengawetan pangan paling banyak mengaplikasikan sinar gamma karena lebih ekonomis dibanding radiasi jenis lainnya. Cobalt dianggap memiliki efisiensi yang baik, dimana efisiensi radiasi meningkat seiring peningkatan dosis yang diaplikasikan pada bahan.

**Kondisi pangan.** Sinar gamma mampu menembus logam, kertas maupun plastik hingga kedalaman 40 cm. Iradiasi menyebabkan radiolisis, yaitu perubahan air menjadi senyawa lain yang bersifat oksidatif. Pangan kering lebih tahan daripada pangan basah dan pangan beku relatif lebih tahan daripada pangan yang tidak beku. Pangan dengan Aw rendah atau pangan yang dikemas vakum lebih tahan iradiasi. Sebaliknya, pangan yang telah mendapat perlakuan lain seperti proses *curing*, suhu tinggi ataupun

penambahan asam akan lebih peka terhadap iradiasi. Efek lain dari iradiasi jika dilakukan pada dosis tinggi adalah rusaknya komponen pangan, seperti timbulnya ketengikan pada pangan dengan kandungan lemak tinggi karena terjadi oksidasi lemak.

**Kondisi mikroorganisme.** Sensitivitas terhadap iradiasi tergantung jenis mikroorganisme. Berdasarkan ukuran yang berbeda, kapang lebih sensitif dibandingkan khamir, khamir lebih sensitif dibandingkan bakteri dan bakteri lebih sensitif dibandingkan virus. Bakteri Gram negatif lebih sensitif dibandingkan bakteri Gram positif. Berdasarkan fase pertumbuhannya, bakteri pada fase logaritmik (pertumbuhan eksponensial) lebih peka terhadap iradiasi dari pada fase statis. Fase lag (adaptasi) merupakan fase bakteri yang paling tahan terhadap iradiasi.

Berikut adalah kriteria proses radiasi pangan berdasarkan dosis yang digunakan:

- **Radurisasi/Radurization** (0,5 – 2,5 kGy)  
Setara dengan proses pasteurisasi susu, diaplikasikan untuk pengawetan daging segar, produk unggas, produk perikanan, buah, sayuran dan sereal untuk menghindari bakteri perusak yang akan menurunkan mutu bahan.
- **Radisidasi/Radicidation** (2,5 – 10 kGy)  
Diaplikasikan untuk mengeleminasi mikroorganisme pembusuk dan nonspora serta untuk inaktivasi mikroorganisme patogen.
- **Radapertisasi/Radappertization** (10 – 50 kGy)  
Serupa dengan sterilisasi komersial yang sering diaplikasikan pada pangan olahan.

## E. Pengendalian Atmosfer

Pengendalian atmosfer merupakan penyimpanan bahan pangan dengan cara pengaturan komposisi udara atau pengaturan konsentrasi oksigen ( $O_2$ ), karbondioksida ( $CO_2$ ) dan nitrogen ( $N_2$ ). Pengendalian mikroorganisme dilakukan dengan *Controlled Atmosphere Packaging* (CAP), *Modified Atmosphere Packaging* (MAP) dan *vaccum packaging* atau pengemasan vakum.

***Controlled Atmosphere Packaging (CAP)***. Kondisi atmosfer dalam fasilitas penyimpanan/pengemasan diatur dengan komposisi tingkat gas yang ditentukan. Komposisi gas tersebut terus dimonitor secara kontinyu agar tercapai kondisi yang diinginkan. Metode ini sering diaplikasikan di gudang – gudang penyimpanan bahan pangan.

***Modified Atmosphere Packaging (MAP)***. Pada metode ini bahan pangan dikemas dalam wadah tertutup, sebelumnya udara dalam kemasan dikeluarkan dan kemudian diisi dengan gas *inert* atau komposisi gas tertentu kemudian dikemas dengan kondisi hermetis. Pada sistem ini tidak diperlukan pemantauan dalam kemasan tersebut. Aplikasi yang dapat diterapkan adalah pengaturan konsentrasi gas  $CO_2$  baik secara tunggal maupun dengan dikombinasikan dengan gas  $N_2$ . Pengaturan gas  $CO_2$  sebanyak 10% sudah dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Efek penghambatan akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi gas  $CO_2$  dalam kemasan.

**Metode Pengemasan vakum.** Pada metode ini bahan pangan dikemas vakum dengan cara menghilangkan udara dari kemasan dan kemudian kemasan ditutup rapat. Metode ini dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme aerob, namun dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme anaerob.



Ketiga metode pengendalian atmosfer tersebut dapat diaplikasikan pada produk pasta segar, *bakery*, daging mentah dan produk olahannya, produk olahan telur, hasil laut dan produk olahannya, sayuran, buah, keju dan bumbu atau rempah dengan pH rendah untuk menghambat pertumbuhan khamir dan kapang. Faktor – faktor yang mempengaruhi aplikasi pengendalian atmosfer adalah kondisi proses, kondisi pangan dan kondisi mikroorganisme.

**Kondisi proses.** Bahan pangan yang dikemas dengan kemasan vakum/gas *inert* efektif menghambat pertumbuhan mikroorganisme aerob. Daging segar dapat dikemas dengan metode MAP dengan mengatur komposisi gas O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> dan N<sub>2</sub>. Gas O<sub>2</sub> akan mempertahankan warna merah pada daging karena terbentuknya oksimioglobin, gas CO<sub>2</sub> dapat mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme dan gas N<sub>2</sub> dapat sebagai pengganti udara karena sifatnya yang *inert*.

**Kondisi pangan.** Komposisi bahan pangan seperti kandungan asam (pH), karbohidrat, protein dan nutrien lain, serta kandungan O<sub>2</sub> baik yang terlarut maupun yang terperangkap dalam bahan dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Aplikasi MAP dapat disesuaikan dengan komposisi bahan pangan.

**Kondisi mikroorganisme.** Kelompok mikroorganisme aerob akan terhambat pertumbuhannya pada bahan pangan yang dikemas vakum dan MAP dengan gas *inert*, sebaliknya kelompok mikroorganisme anaerob dapat tumbuh. Bakteri patogen pskrofilik dan tidak membentuk endospora masih dapat tumbuh pada bahan pangan yang dikemas secara MAP dan disimpan pada suhu rendah. Oleh karena itu pengendalian mikroorganisme pada bahan pangan sebaiknya dengan kombinasi metode pengawetan.

## 2. Pengendalian Kimia

### A. Sanitasi

Sanitasi menurut WHO (2003) merupakan upaya penghilangan semua faktor luar bahan pangan yang menyebabkan kontaminasi dari bahan mentah sampai dengan siap saji. Terkait bahan pangan, sanitasi pangan telah diatur dalam UU No 7 tentang Pangan Tahun 1996 (Bab I, Pasal 1). Sanitasi pangan didefinisikan sebagai upaya pencegahan terhadap kemungkinan bertumbuh dan berkembangnya jasad renik pembusuk dan patogen dalam makanan, minuman, peralatan dan bangunan yang dapat merusak pangan dan membahayakan manusia. Sanitasi pangan bertujuan untuk melindungi kesehatan masyarakat melalui pengurangan ataupun penghilangan cemaran dalam bahan pangan. Pada prinsipnya sanitasi adalah upaya yang dilakukan untuk menghindari pertumbuhan mikroorganisme, baik secara fisik maupun secara kimia dengan penggunaan bahan kimia sebagai sanitaiser selama penanganan, pengolahan, penyimpanan dan distribusinya.

Sanitasi merupakan kelanjutan upaya pembersihan atau pencucian, tahapannya meliputi pembersihan dengan senyawa pembersih untuk menghilangkan kotoran yang terlihat, pembilasan kotoran dan senyawa pembersih, penggunaan sanitaiser untuk membunuh dan menghilangkan serta menghambat mikroorganisme yang tersisa dan pembilasan akhir untuk menghilangkan sisa sanitaiser, jika diperlukan. Sanitasi secara umum diterapkan pada sarana dan prasarana yang digunakan, terutama pada peralatan baik pada proses produksi, penyimpanan, distribusi maupun penyajian. Sanitasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan hingga permukaan alat mencapai suhu  $\geq 82^{\circ}\text{C}$  selama beberapa menit. Pemanasan cara basah dengan uap panas ataupun air panas lebih banyak diaplikasikan karena

lebih efektif dalam membunuh mikroorganisme. Sanitasi dengan uap panas dilakukan pada suhu 170°F selama 15 menit atau 200°C selama 5 menit, sedangkan sanitasi dengan air panas dilakukan dengan merendam peralatan jasa boga (piring, mangkuk, sendok dan lain-lain) dalam air panas dengan suhu  $\geq 80^\circ\text{C}$ . Selain itu sanitasi fisik juga dapat dilakukan secara iradiasi dimana bahan disanitasi menggunakan sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 2.500 Å atau katode energi tinggi atau sinar gama untuk menghancurkan sel mikroorganisme.

Sanitasi secara kimia dilakukan dengan menggunakan bahan kimia yang dikenal sebagai sanitaiser. Karakteristik ideal suatu sanitaiser (desinfektan) adalah sebagai berikut:

- Sanitaiser harus dapat menghilangkan semua jenis mikroorganisme dengan cepat (bakteri berikut sel vegetatifnya, kapang dan khamir)
- Sanitaiser harus dapat bekerja efektif pada beberapa kondisi lingkungan yang berbeda, seperti pada permukaan yang tercemar, berbagai tingkat kesadahan air, pH yang berbeda dan saat terdapat residu detergen
- Sanitaiser harus mudah digunakan, diukur dan dapat larut dalam air
- Sanitaiser harus stabil saat pembelian dan penyimpanan dalam bentuk konsentrat, serta stabil saat penggunaan dalam bentuk larutan.
- Sanitaiser juga tidak boleh menimbulkan bau menyengat dan tidak menyebabkan iritasi pada kulit (*irritant*)
- Sanitaiser harus mudah diperoleh dengan harga terjangkau

Beberapa jenis sanitaiser yang umum digunakan di industri pangan baik untuk sanitasi peralatan pengolahan pangan ataupun lingkungan industri pangan adalah *Acidified*

*Sodium Chlorite* (ASC), Ozon ( $O_3$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), Klorin ( $Cl_2$ ) atau kombinasinya dengan Na, Ca, iodofor, quats (*quaternary ammonium compound*) dan asam. Dari bahan-bahan tersebut, klorin, iodofor dan quats merupakan tiga jenis sanitaiser yang paling banyak digunakan.

**Klorin** merupakan sanitaiser yang paling kuat dengan spektrum luas dan paling banyak digunakan di industri pangan. Sebagai sanitaiser, klorin dapat berupa senyawa  $Cl_2$ , HOCl, NaOCl, CaOCl, kloramin dan  $ClO_2$ . Semua klorin membentuk asam hipoklorit (HOCl) dalam larutan. Dalam aplikasinya, hal terpenting adalah pengaturan pH pada kisaran pH netral (6-7), untuk mencegah terjadinya korosi, dengan konsekuensi hilangnya sebagian aktifitas mikrosidalnya, tetapi jumlah HOCl<sup>-</sup> masih cukup untuk melakukan proses sanitasi dengan baik. Asam hipoklorit adalah senyawa khlorin yang paling aktif dan efektif dalam meninaktifkan sel-sel mikroorganisme dalam suspensi air. Reduksi populasi sel sebanyak 90% untuk sebagian besar mikroorganisme dapat dicapai dalam waktu kurang dari 10 detik dengan kadar khlorin bebas yang relatif rendah. Cara kerja dari senyawa khlorin ini adalah dengan mempengaruhi fungsi membran sel, terutama transpor nutrisi ekstraseluler, karbohidrat dan asam amino. Alasan penggunaan klorin adalah karena klorin efektif untuk membunuh hampir semua jenis mikroorganisme, harganya relatif murah, tidak terpengaruh air sadah, tidak perlu dibilas/dicuci bila digunakan pada konsentrasi  $\leq 200$  ppm dan tersedia dalam bentuk cair dan bubuk.

Senyawa yodium utama yang digunakan untuk sanitasi adalah larutan-larutan yodofor, alkohol-yodium, dan larutan yodium cair. **Yodofor** mengandung yodium dan deterjen anionik. Yodofor mempunyai aktifitas bakterisidal yang

lebih besar pada kondisi asam ( $\pm$  pH 3), oleh karena itu senyawa yodofor sering dimodifikasi dengan asam fosfat. Pada pH rendah 25 ppm  $I_2$  memiliki aktivitas antibakteri yang sama dengan 200 ppm klorin pada pH netral. Yodofor yang dibuat kompleks dengan surfaktan dan asam memberikan sifat-sifat deterjen sehingga kompleks ini mempunyai sifat-sifat deterjen-sanitaiser. Keuntungan penggunaan yodofor antara lain adalah tidak mengiritasi kulit pada konsentrasi yang direkomendasikan, berwarna merah (amber) jika masih aktif sehingga memudahkan pengamatan dan tidak cepat bereaksi dengan kotoran-kotoran organik. Kelemahan senyawa ini dibandingkan dengan khlorin adalah lebih mahal, mudah menguap pada suhu  $49^\circ C$ , menyebabkan warna pada plastik epoksi, PVC dan permukaan alat lainnya, memucatkan warna makanan berpati dan tidak efektif terhadap spora.

**Quats** dikenal juga sebagai “quaternaries” atau “QACs”, merupakan sanitaiser yang efektif namun memiliki spektrum yang lebih sempit dibanding klorin dan yodofor. Umumnya efektif pada bakteri Gram positif saja. Meskipun demikian quats memiliki keunggulan, antara lain meninggalkan residu nonvolatil yang dapat menghambat pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lain, stabil terhadap panas, efektif pada kisaran pH yang lebih luas, tidak menyebabkan korosif dan iritasi, tidak mempengaruhi rasa dan bau, dan lebih tidak dipengaruhi oleh adanya senyawa organik.

Dalam aplikasinya, sangat penting untuk memperhatikan dosis aman pemakaian sanitaiser dan petunjuk penggunaan dari pabrik pembuatnya. Efektivitas sanitaiser tergantung pada jenis dan konsentrasinya, lama kontak, suhu dan pH. Beberapa petunjuk penggunaan sanitaiser disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 7. Beberapa Petunjuk Penggunaan Sanitaizer**

	Klorin	Iodine	Quats
Konsentrasi minimum			
• cara rendam	50 ppm	12,5 -25,0 ppm	220 ppm
• cara semprot	50 ppm	12,5 -25,0 ppm	220 ppm
Suhu larutan	di atas 24°C di bawah 46°C	29°C di bawah 49°C	di atas 24°C
Waktu kontak			
• cara rendam	7 detik (sesuai petunjuk pabrik)	30 detik (sesuai petunjuk pabrik)	30 detik (sesuai label/petunjuk pabrik)
• cara semprot	50 ppm	50 ppm	50 ppm
pH (bilas dengan baik habis cuci karena residu detergen menaikkan pH)	Harus di bawah 8	Harus di bawah 5	Paling efektif pada pH 7
Daya korosif	Korosif untuk beberapa bahan	Tidak korosif	Tidak korosif
Reaksi dengan bahan organik dalam air	Cepat inaktif	Menjadi kurang efektif	Tidak terpengaruh
Reaksi dengan air sadah	Tidak terpengaruh	Tidak terpengaruh	Beberapa menjadi tidak aktif, kesadahan > 500 ppm tidak baik

Sumber: (Hariyadi, P dan Dewanti-Hariyadi, R., 2011)

## B. Pengawet Kimia

Bahan atau zat kimia yang dengan sengaja ditambahkan pada bahan pangan untuk mencegah atau memperlambat kerusakan dengan tujuan memperpanjang umur simpan atau pengawetan dan untuk mencegah atau mengontrol pertumbuhan mikroorganisme, termasuk mikroorganisme

patogen terkait keamanan pangan. Pengawet kimia atau antimikroba sintetis merupakan bahan kimia hasil sintesis yang mempunyai aktivitas menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan pengaruh tertentu, yaitu berbeda bagi kelompok mikroorganisme tertentu. Secara umum senyawa antimikroba ini menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mekanisme berikut, yaitu merusak dinding sel dan menghalangi pembentukan dinding sel, mengubah permeabilitas dinding sel, menghambat kerja enzim dan menghambat sistem asam nukleat dan protein sel.

Bahan pengawet sintetis termasuk dalam Bahan Tambahan Makanan (BTM) sebagaimana tercantum pada Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) RI No. 722/Menkes/Per/IX/88 tentang BTM. Namun, istilah Bahan Tambahan Pangan (BTP) saat ini lebih banyak digunakan sebagaimana dinyatakan dalam UU Pangan No. 7 Tahun 1996. Bahan pengawet sintetis termasuk kelompok pengawet, yaitu BTP yang mampu mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau peruraian lain terhadap produk pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Kelompok ini dikategorikan sebagai BTP yang berfungsi menjaga kesegaran dan mencegah kerusakan produk pangan karena aktivitas mikroorganisme, sehingga bisa meningkatkan masa simpan produk pangan dan tetap aman untuk dikonsumsi. Dalam hal ini pengertian pengawet kimia tidak termasuk penggunaan garam, gula, cuka (vinegar), rempah-rempah dan minyak atsirinya, ataupun substansi yang ditambahkan dengan paparan langsung seperti pengasapan.

Persyaratan bahan pengawet sintetis yang digunakan pada bahan pangan adalah sebagai berikut: aman dikonsumsi manusia, cukup efektif jika digunakan dalam konsentrasi rendah atau mempunyai daya antimikroba yang

tinggi, secara umum tidak berpengaruh atau berdampak negatif terhadap mutu bahan pangan (tekstur, warna), tidak berinteraksi dengan komponen pangan sehingga dapat menurunkan atau menghilangkan aktivitasnya, relatif stabil selama penyimpanan dan ekonomis atau harganya terjangkau. Tiga kelompok pengawet kimia yang umum digunakan di industri pangan adalah kelompok benzoat, nitrit dan sorbat. Ketiganya sering diperdagangkan dalam bentuk bubuk, karena lebih stabil dalam bentuk garamnya. Dalam sistem pangan, dengan adanya air penggunaan pengawet dalam bentuk garamnya akan menghasilkan asam lemah atau molekul asam yang tidak terdisosiasi. Membran sel mikroorganisme bersifat permeabel terhadap molekul asam yang tidak terdisosiasi ini, hal ini akan menyebabkan pH sel menjadi rendah dan organ sel akan rusak. Contohnya natrium benzoat dalam sistem pangan, dengan adanya air akan berada dalam bentuk asam benzoat (asam lemah).

**Benzoat**, dapat digunakan dalam bentuk asam atau garamnya, yaitu natrium benzoat atau ester dari parahidroksi benzoat (paraben). Penggunaan benzoat sangat luas, karena dapat menghambat pertumbuhan semua jenis mikroorganisme. Benzoat efektif untuk menghambat kapang dan khamir. Natrium benzoat lebih mudah diaplikasikan pada bahan pangan dibandingkan asam benzoat dan penggunaan sebanyak 1% (100 ppm) sudah cukup untuk mengawetkan. Benzoat aktif pada kondisi asam dengan pH < 4,5 sehingga banyak diaplikasikan pada bahan pangan asam (ber-pH rendah) seperti soft drink (minuman berkarbonasi), jus buah, saos tomat, sirup, selai, jeli dan pangan lain. **Sorbat**, dalam bentuk asam dan garamnya (natrium dan kalium sorbat) mempunyai mekanisme penghambatan yang sama dengan benzoat. Penggunaannya efektif untuk menghambat pertumbuhan kapang dan khamir



pada beragam bahan pangan. Sorbat umum digunakan pada produk buah kering, selai, jeli, pekatan sari buah seperti nanas, margarin, keju dan olahannya. **Nitrit**, dalam bentuk natrium nitrit umum digunakan sebagai garam *curing* (garam sendawa) pada daging yang diproses dengan pemanasan untuk mempertahankan kualitas daging, terutama warna. Penggunaannya efektif dalam menghambat germinasi dan sporulasi sel *Clostridium botulinum*, yang merupakan bakteri patogen. Pada produk dengan kadar garam rendah dan untuk mengawetkan, penambahan natrium nitrit sebanyak 50-150 mg/kg bahan diperbolehkan. Selain itu nitrit juga digunakan pada produk ikan dan keju.

Selain ketiga pengawet sintetis tadi, pengawet lain yang dapat digunakan adalah propionat, sulfit, asam organik seperti asam asetat, asam laktat dan asam sitrat, monolaurin/gliseryl monolaurat, golongan epoksida, BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluen) dan TBHQ. Kesemua bahan pengawet tersebut batas penggunaannya diatur dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-0222-1995 tentang Bahan Tambahan Makanan sesuai prinsip GMP (*Good Manufacturing Practices*).

### 3. Bahan Alami

Selain bahan pengawet kimia, dalam upaya memperpanjang umur simpan bahan pangan dapat digunakan bahan alami yang lebih dikenal sebagai antimikroba (antimikroorganisme) alami. Kelompok ini aman dalam bentuk aslinya, namun hasil ekstraksinya masih perlu uji toksisitas. Eksplorasi komponen antimikroba alami saat ini lebih difokuskan pada tanaman indigenus (lokal) yang telah dimanfaatkan secara tradisional untuk memperoleh sumber dan potensi antimikroba baru, yang diharapkan dapat menggantikan pengawet kimia. Senyawa

antimikroba dapat digambarkan sebagai produk alami dengan berat molekul rendah yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah. Senyawa tersebut dibentuk mikroorganisme dan tanaman sebagai metabolit sekunder dan dikenal sebagai komponen bioaktif, yaitu komponen biologis yang memiliki aktivitas atau fungsi tertentu. Kemampuan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh komponen bioaktif yang bersifat antimikroba di dalam suatu bahan. Telah diketahui bahwa komponen bioaktif rempah-rempah merupakan komponen yang banyak berperan sebagai senyawa antimikroba.

Aktivitas antimikroba melalui mekanisme tertentu dengan mempengaruhi sintesis dinding sel, integritas membran sel, sintesis protein, replikasi, *repair* dan transkripsi DNA. Komponen bioaktif ekstrak tanaman yang bersifat antimikroba terdapat dalam dua bentuk utama, yaitu ekstrak nonpolar yang dapat berupa minyak atsiri dan senyawa terpenoid; dan ekstrak polar yang dapat berupa senyawa-senyawa fenolik dan alkaloid. Komponen antimikroba tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel mikroorganisme yang memicu kematian sel. Kerusakan yang ditimbulkan oleh senyawa antimikroba dapat bersifat mikrosidal (kerusakan tetap/membunuh sel) atau mikrostatik (kerusakan yang dapat balik/menghambat sel).

Berikut adalah beberapa komponen bioaktif yang terdapat dalam tanaman (Tabel 8). **Fenol** merupakan senyawa yang memiliki sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan alkil. Komponen fenolik tersebar luas pada bagian tumbuhan dan diketahui sebagai antipatogen, antiherbivor dan bersifat allelopatik. Senyawa fenolik diduga sebagai komponen antimikroba utama dari minyak atsiri rempah dan herba. **Flavonoid** merupakan

golongan terbesar dari fenol dan terdapat dalam bentuk aglikon maupun glikosida dalam tanaman. Flavonoid berperan penting dalam biokimia dan fisiologi tanaman baik sebagai antioksidan, inhibitor enzim dan prekursor bagi komponen toksik. Flavonoid memiliki aktivitas antimikroba yang luas dan penghambatan enzim, diantaranya flavanon terhadap *Methicillin – Resistant S. aureus* (MRSA) dan isoflavon terhadap spesies *Streptococcal*. Alkaloid adalah senyawa alami amina yang banyak terdapat pada tumbuhan dan sedikit pada hewan. Senyawa alkaloid sebagian besar mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. **Alkaloid** memiliki aktivitas antimikroba, diantaranya kausin terhadap *B. subtilis*, *Salmonella lutea*, *Pseudomonas vulgaris*, *E. coli*, *S. aureus* dan murayanol terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *Candida parapsilasi*. **Terpenoid** merupakan senyawa utama penyusun minyak atsiri. Rumus terpenoid  $(C_5H_8)_n$  atau dengan satu unit isoprene-2 metil-2,3 butadiena, jumlah n menunjukkan klasifikasi terpenoid yang dikenal dengan monoterpen, seskuiterpen, tetraterpen dan politerpen. Senyawa terpenoid dengan aktivitas antimikroba antara lain borneol, sineol, pinene, kamfene dan kamfor. Merediol, linalool, indol dan kadinen efektif menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. aureus*.

Saat ini, trend pengawet alami di industri pangan adalah penggunaan bakteriosin berupa nisin dan lacticin. Bakteriosin sendiri merupakan komponen antibakteri yang dihasilkan oleh kelompok bakteri tertentu. Selain itu juga digunakan rempah-rempah kering berikut minyak atsirinya, seperti pala dan cengkeh, serta penggunaan bumbu atau herba segar seperti bawang putih, kunyit, kecombrang dan daun kesum.

**Tabel 8. Senyawa Antimikroba Utama dari Tanaman**

Kelas	Subkelas	Contoh	Mekanisme
Fenolik	Fenol sederhana	Catechol Epicatechin	Deprivasi substrat Mengganggu membran
	Asam Fenolat	Asam cinamat	
	Quinon	Hyperisin	Mengikat adhesin, kompleks dengan dinding sel, inaktivasi enzim
	Flavonoid	Chrysin	Mengikat adhesin
	Flavon	Abyssinon	Kompleks dengan dinding sel Inaktivasi enzim Menghambat HIV reverse transferase
	Flavonol Tannin	Totarol Ellagitannin	Mengikat protein Mengikat adhesin Menghambat enzim Deprivasi substrat Kompleks dengan dinding sel Mengganggu membran Kompleksasi ion logam
	Coumarin	Warfarin	Interaksi dengan DNA eukariot (aktivitas antiviral)
Terpenoids , minyak atsiri		Capsaisin	Mengganggu membran
Alkaloid		Berberin	<i>Intercalate</i> ke

		dinding sel dan atau DNA
	Piperin	
Lectin dan polipeptida	Mannose spesifik agglutinin	Blokir fusi virus dan adsorpsi
	Fabatin	Membentuk jembatan disulfida

Sumber: Cowan, 1999

Mekanisme penghambatan komponen bioaktif dari antimikroba alami adalah:

1. Mengganggu pembentukan dinding sel, adanya akumulasi komponen antimikroba (lipofilat) pada dinding atau membran sel yang menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul fenol minyak *thyme*, lebih hidrofobik sehingga dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat larut pada fase lipid dari membran bakteri.
2. Bereaksi dengan membran sel, komponen antimikroba akan mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, seperti protein dan asam nukleat. Senyawa *fenol* mengakibatkan lisis sel dan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma & asam nukleat.
3. Menginaktivasi enzim, komponen bioaktif dapat mengganggu aktivitas enzim – enzim esensial yang berperan dalam metabolisme dan pertumbuhan sel sehingga aktivitas mikroorganisme menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama sel akan inaktiv. Konsentrasi antimikroba yang tinggi dapat

menyebabkan koagulasi enzim. Minyak oleoresin yang dihasilkan kayu manis, cengkeh, *thyme* dan *oregano* dapat menghambat produksi etanol, proses respirasi sel dan sporulasi khamir dan kapang.

4. Menginaktivasi fungsi material genetik, Komponen bioaktif juga dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA dan RNA), yang mengakibatkan terganggunya informasi genetik. Komponen ini menghambat aktivitas RNA polimerase dan DNA polimerase, yang selanjutnya akan menginaktivasi materi genetik sel sehingga mengganggu proses pembelahan sel.

#### 4. *Hurdle Concept*

Bahan pangan bersifat *perisable* (mudah rusak), guna memperpanjang umur simpannya upaya yang seringkali dilakukan adalah dengan memberikan berbagai metode pengawetan. Beberapa metode pengawetan yang sering digunakan adalah pemanasan/pemasakan, pengeringan, pengasapan, penggaraman, pengasaman dan penambahan bahan pengawet. Dalam prakteknya, seringkali metode pengawetan yang digunakan lebih dari satu atau dengan kata lain dikombinasikan beberapa metode pengawetan. Konsep mengenai kombinasi berbagai metode pengawetan dan landasan ilmiahnya dikembangkan oleh Leistner, seorang peneliti dari Jerman. Setiap faktor yang berperan dalam pengawetan atau metode yang digunakan untuk tujuan pengawetan disebut *hurdle*. *Hurdle concept* adalah suatu konsep yang dikembangkan dengan mengkombinasikan berbagai metode pengawetan bahan pangan (faktor *hurdle*), dimana setiap faktor tidak cukup untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme perusak dan patogen. Konsep

ini kemudian dikenal sebagai *Hürden Technologie* (Jerman) atau *Hurdle Technology* (Inggris).

*Hurdle Technology* atau teknologi kombinasi proses/pengawetan tidak hanya sekedar mengkombinasikan berbagai metode pengawetan, namun juga dapat digunakan untuk mengoptimalkan efek pengawetan yang diinginkan tanpa memberikan perlakuan pengawetan yang berlebihan. *Hurdle* yang berpotensi dalam pengawetan dapat dikelompokkan ke dalam fisik, fisiko-kimia dan yang berasal dari mikroorganisme sebagaimana tersaji pada Tabel 9.

**Tabel 9. Berbagai Hurdle yang Berpotensi Dalam Pengawetan Pangan**

Jenis Hurdle	Contoh
Fisik	<i>Aseptic packaging, electromagnetic energy (microwave, pulsed magnetic fields), suhu tinggi (blansir, pasteurisasi, sterilisasi, evaporasi, pemanggangan, penggorengan), radiasi (UV, ionisasi, iradiasi), suhu rendah (pendinginan, pembekuan), modified atmosphere packaging, packaging films, ultrahigh pressure, ultrasonikasi</i>
Fisiko – kimia	Karbondioksida, etanol, asam laktat, laktoperoksidase, pH rendah, potensial redoks rendah, aktivitas air rendah, produk reaksi maillard, asam organik, oksigen, ozon, fenol, asap, garam, sodium nitrit, nitrat, sulfat, rempah-rempah dan herba
Berasal dari mikroorganisme	Antibiotik, bakteriosin, mikroorganisme kompetitor, kultur protektif

Sumber: Ohlsson dan Bengtsson (2002) dalam Nurhaida, L (2011)

Diantara kelompok pada Tabel 10., hurdle yang paling penting adalah hurdle proses dan additif, seperti suhu tinggi, suhu rendah, aktivitas air ( $A_w$ ), keasaman, potensi redoks ( $E_h$ ), mikroorganisme kompetitor (misalnya bakteri asam laktat) dan pengawet (misalnya nitrit, sorbat, sulfit). Aplikasi dari masing-masing hurdle utama ini dapat dilihat pada Tabel xx. Selain hurdle utama tersebut, berbagai metode pengawetan mutakhir seperti *high hydrostatic pressure* (HHP), *electromagnetic energy*, *high-voltage electric pulses* dan proses fisik lainnya dapat diterapkan sebagai salah satu hurdle.

**Tabel 10. Hurdle Utama Dalam Pengawetan Pangan**

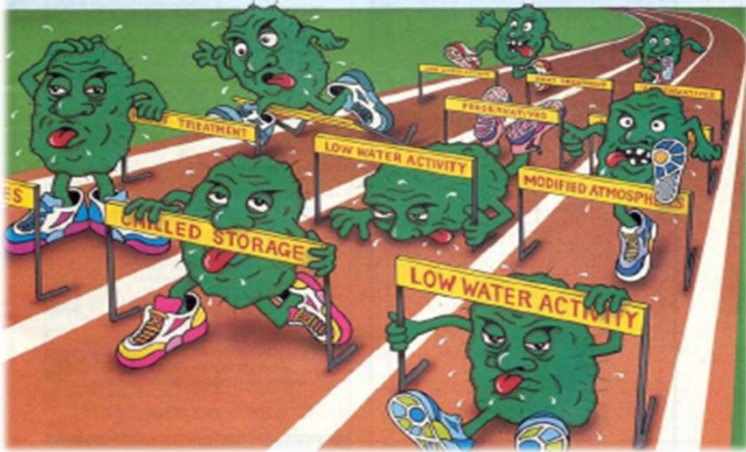
Simbol	Parameter	Aplikasi
F	Suhu tinggi	Pemanasan
T	Suhu rendah	Pendinginan, pembekuan
$A_w$	Penurunan aktivitas air	Pengeringan, kuring, penambahan gula
pH	Peningkatan keasaman	Penambahan atau pembentukan asam
$E_h$	Penurunan potensial redoks	Penghilangan $O_2$
BTP	Penambahan bahan pengawet	Sorbat, sulfit, nitrit
cf	Mikroorganisme kompetitor	Fermentasi

Sumber: Leistner (1995) dalam Nurhaida, L (2011)

Pertumbuhan mikroorganisme pada bahan pangan dengan aplikasi teknologi hurdle dapat digambarkan seperti atlet yang sedang berlari halang rintang. Rintang-rintang yang harus dilalui dianalogikan sebagai berbagai macam metode pengawetan yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Gambar 24).



Mikroorganisme yang berada dalam bahan pangan tidak boleh melewati hurdle yang diterapkan. Jika mikroorganisme dapat melewati hurdle atau tidak terhambat oleh hurdle maka bahan pangan tersebut akan mengalami kerusakan (busuk) atau mikroorganisme patogen akan tumbuh.



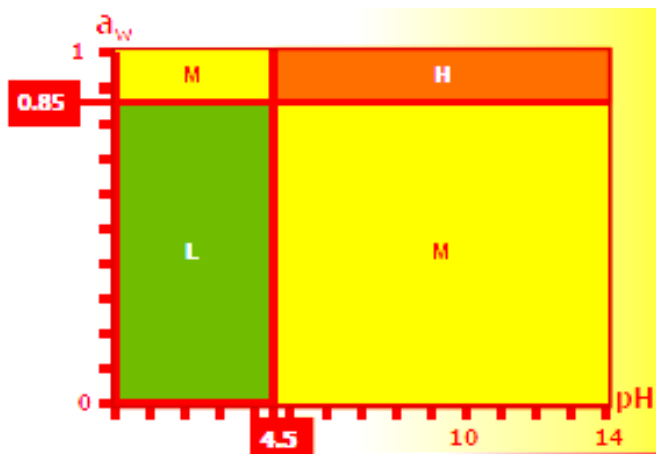
Gambar 24. Analogi Aplikasi Teknologi Hurdle

Aplikasi teknologi hurdle tidak terbatas pada pencegahan pertumbuhan mikroorganisme guna menjamin keamanan pangan, namun juga berpengaruh terhadap kualitas pangan. Pengaruhnya terhadap kualitas pangan atau produk dapat positif atau negatif, tergantung pada intensitasnya. Beberapa hurdle (misalnya produk reaksi Maillard atau pemberian garam nitrat/nitrit) memiliki aktivitas sebagai senyawa antimikroba dan secara bersamaan dapat memperbaiki flavor. Akan tetapi beberapa hurdle memberikan efek negatif terhadap beberapa bahan pangan, misalnya pendinginan dapat merusak jaringan bahan pangan (*chilling injury*). Aplikasi teknologi hurdle

harus dapat menjamin keamanan pangan dan stabilitas pangan. Jika intensitas atau konsentrasi hurdle terlalu kecil maka harus ditambah atau diperkuat. Namun, apabila hurdle merusak mutu pangan, misalnya merusak nutrisi, warna dan tekstur, maka harus dikurangi dan ditambah hurdle lain yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme target pada pangan tersebut.

Bahan pangan dapat dikelompokkan berdasarkan  $a_w$  dan pH-nya menjadi tiga kelompok potensi bahaya, sebagaimana diilustrasikan pada Gambar 25. Kelompok tersebut adalah:

1. *High risk food* (H) atau pangan beresiko tinggi adalah pangan dengan  $a_w$  di atas 0,85 dan pH di atas 4,5;
2. *Medium risk food* (M) atau pangan beresiko menengah adalah pangan dengan  $a_w$  di atas 0,85 dan pH di bawah 4,5 atau  $a_w$  di bawah 0,85 dan pH di atas 4,5; dan
3. *Low risk food* (L) atau pangan beresiko rendah adalah pangan dengan  $a_w$  di bawah 0,85 dan pH di bawah 4,5.



Gambar 25. Analogi Aplikasi Teknologi Hurdle

Contoh aplikasi teknologi hurdle dengan mempertimbangkan kualitas dan keamanan pangan adalah pada produk keju oles. Produk ini memiliki pH di atas 4,5 dengan Aw di atas 0,85 atau termasuk pangan beresiko tinggi. Agar produk ini memiliki umur simpan yang panjang dan tetap terjamin keamanannya, maka harus dilakukan sterilisasi. Namun proses sterilisasi akan memberikan efek negatif dengan menyebabkan penurunan kualitas. Oleh karena itu, produk ini hanya dipasteurisasi. Namun, guna menjamin keamanannya, maka dilakukan kombinasi hurdle dengan penambahan garam, penambahan asam untuk menurunkan pH dan penurunan Aw, sehingga produk dapat tetap awet dan aman tanpa merusak kualitas sensori dan kimianya.

## 5. Pengujian Potensi Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba umumnya bertujuan untuk mengukur seberapa besar potensi suatu senyawa atau komponen bioaktif dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dibawah kondisi terkontrol. Respons mikroorganisme terhadap antimikroba berbeda-beda, umumnya bersifat **spesifik** dan **sensitif**. Efektivitas antimikroba sangat tergantung pada konsentrasi dan kekuatan senyawa aktif atau komponen bioaktifnya. Potensi antimikroba suatu senyawa menunjukkan kekuatan suatu bahan atau senyawa dalam menghambat/mencegah pertumbuhan sel (mikrostatik) atau membunuh (mikrosidal) sel mikroorganisme.

Pada prinsipnya, pengujian potensi antimikroba suatu senyawa adalah membandingkan respon mikroorganisme uji terhadap senyawa uji dalam kondisi yang sama pada senyawa baku pembanding atau baku standar. Baku standar yang digunakan haruslah zat atau senyawa yang sudah

diketahui kemurnian dan kekuatan atau potensinya. Baku standar yang umum digunakan adalah kelompok antibiotik seperti streptomycin, tetracycline, penicilin, methicillin, kloramfenikol dan antibiotik lain dengan spektrum luas (*broad spectrum*) atau disesuaikan dengan mikroorganisme uji.

Mikroorganisme yang digunakan dalam pengujian haruslah mikroorganisme yang diketahui kemurnian dan susceptibilitasnya. Pada pengujian, umumnya digunakan kelompok mikroorganisme patogen walaupun dapat pula menggunakan kelompok mikroorganisme pembusuk. Penggunaan mikroorganisme patogen terkait keamanan pangan, kelompok yang sering digunakan adalah *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, dan lain-lain.

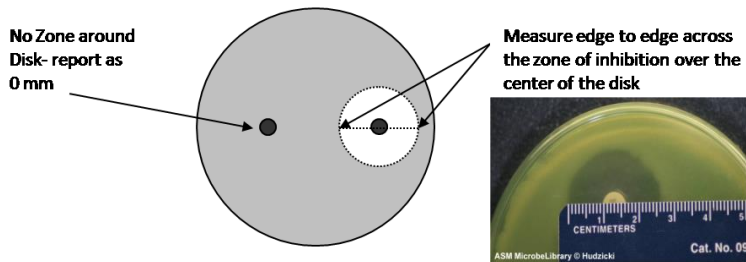
Metode uji yang dapat digunakan dalam pengujian potensi antimikroba suatu senyawa adalah **metode difusi agar (agar diffusion)**, menggunakan media padat (agar) dan **metode dilusi (broth dilution)** menggunakan media cair (broth). Respon yang diamati pada metode difusi agar berupa efek hambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang ditentukan oleh daerah bening (*inhibition zone*) disekeliling zat uji (cara difusi). Pada metode dilusi, respon yang diamati adalah adanya kekeruhan (turbiditas) yang ditimbulkan oleh pertumbuhan mikroorganisme dalam media cair menggunakan turbidimeter ataupun dengan menggunakan spektrofotometer dengan membaca *optical density* (OD) media cair.

**Metode difusi agar (agar diffusion)**. Prinsip dari metode ini adalah senyawa atau zat antimikroba yang akan diuji berdifusi dari reservoir (penampung senyawa uji yang bisa berupa cakram atau sumur) ke dalam media agar yang

telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua metode umum, yaitu metode difusi cakram (*disc diffusion*) dan metode difusi sumur (*well diffusion*). Kedua metode ini tidak jauh berbeda, hanya reservoir senyawa uji yang berbeda.

**Metode difusi cakram** dikenal pula sebagai metode Kirby-Bauer merupakan metode standar yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratories Standards Institute* (CLSI) di Amerika Serikat untuk pengujian kerentanan bakteri terhadap senyawa antimikroba secara *in-vitro*. Metode ini umum digunakan pada antibiotik-antibiotik yang baru ditemukan, untuk mengetahui sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerobik dan fakultatif terhadap berbagai antibiotik tersebut. Pada metode ini reservoir senyawa uji berupa kertas cakram (*disc*) steril. Respon yang diamati adalah daerah bening atau zona hambat (*inhibition zone*) yang terbentuk disekeliling cakram, selanjutnya diameter hambatan yang terbentuk tersebut dibandingkan dengan diameter baku standar (antibiotik). Cara uji menggunakan metode ini dimulai dengan persiapan mikroorganisme dan media uji. Mikroorganisme uji yang digunakan disegarkan kembali (*refresh*) menggunakan media cair, selain itu dilakukan pembuatan media agar cawan (CLSI merekomendasikan Mueller-Hinton Agar). Mikroorganisme uji (18-24 jam) selanjutnya di ukur sesuai standar McFarland 0,5 yang setara dengan  $1 \times 10^8 - 2 \times 10^8$  CFU/ml untuk *E. coli*. Inokulasi dilakukan secara *swab* (gores) pada permukaan agar cawan menggunakan *cotton bud* steril. Lakukan penandaan lokasi peletakan kertas cakram steril dengan dispenser khusus (jika ada), dilanjutkan dengan peletakan kertas cakram steril. Senyawa uji diteteskan pada kertas cakram steril dengan jumlah tertentu (20-60  $\mu$ L). Diamkan

di suhu ruang selama  $\pm 30$  menit untuk memberikan waktu bagi senyawa uji berdifusi ke media agar. Laju difusi senyawa uji melalui media agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan senyawa uji dalam media agar dan berat molekul senyawa uji. Molekul yang lebih besar akan berdifusi pada tingkat yang lebih lambat dari pada senyawa dengan berat molekul lebih rendah. Langkah berikutnya adalah inkubasi pada suhu  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 24 – 48 jam. Pengamatan respons mikroorganisme dilakukan dengan melihat ada atau tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme uji di sekitar kertas cakram yang ditandai adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling cakram. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong atau penggaris (Gambar 26). Adanya zona hambat adalah ukuran tidak langsung dari kemampuan senyawa uji untuk menghambat mikroorganisme tersebut. Setiap senyawa uji memiliki ukuran zona hambat unik (yang berbeda dengan yang lain).



Gambar 26. Zona Hambat dan Cara Pengukurannya  
(Sumber: ASM MicrobeLibrary, 2013)

**Metode difusi sumur** banyak digunakan untuk pengujian kerentanan bakteri terhadap senyawa antimikroba secara in-vitro di laboratorium. Pada metode ini reservoir senyawa uji berupa sumuran yang dibuat di media agar

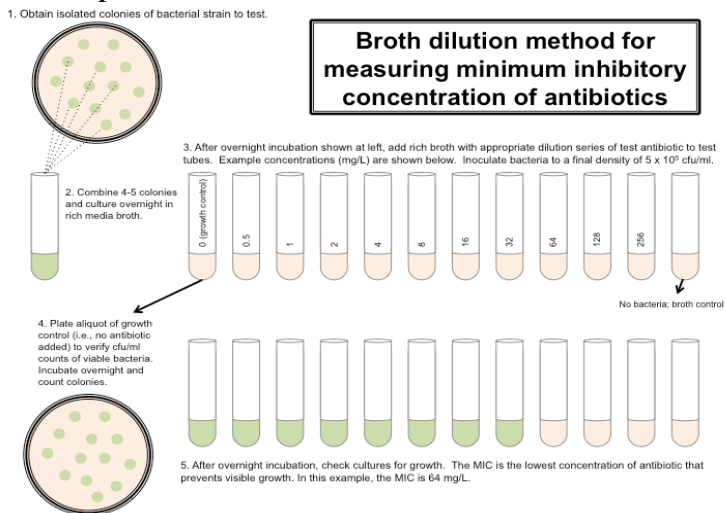
cawan dengan diameter tertentu. Respon yang diamati adalah daerah bening atau zona hambat (*inhibition zone*) yang terbentuk disekeliling sumuran tersebut, selanjutnya diameter hambatan yang terbentuk tersebut dibandingkan dengan diameter baku standar (antibiotik). Cara uji menggunakan metode ini dimulai dengan persiapan mikroorganisme dan media uji. Mikroorganisme uji yang digunakan disegarkan kembali (*refresh*) menggunakan media cair, selain itu dilakukan pembuatan media agar cawan. Mikroorganisme uji (18 - 24 jam) selanjutnya di ukur sesuai standar McFarland 0,5 yang setara dengan  $1 \times 10^8 - 2 \times 10^8$  CFU/ml untuk *E. coli*. Inokulasi dapat dilakukan secara *swab* (gores) pada permukaan agar cawan menggunakan *cotton bud* steril ataupun secara teknik tuang. Lakukan penandaan lokasi sumuran yang akan dibuat dengan dispenser khusus (jika ada), dilanjutkan dengan pembuatan sumuran. Senyawa uji diteteskan pada sumuran dengan jumlah tertentu (20-60  $\mu$ L) dan diamkan di suhu ruang selama  $\pm 30$  menit untuk memberikan waktu bagi senyawa uji berdifusi ke media agar. Laju difusi senyawa uji melalui media agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan senyawa uji dalam media agar dan berat molekul senyawa uji. Molekul yang lebih besar akan berdifusi pada tingkat yang lebih lambat dari pada senyawa dengan berat molekul lebih rendah. Langkah berikutnya adalah inkubasi pada suhu  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 24 – 48 jam. Pengamatan respons mikroorganisme dilakukan dengan melihat ada atau tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme uji di sekitar sumuran yang ditandai adanya zona hambat. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong atau penggaris. Adanya zona hambat adalah ukuran tidak langsung dari kemampuan senyawa uji untuk menghambat mikroorganisme tersebut.

**Metode dilusi (*broth dilution*)**. Prinsip dari metode ini adalah senyawa atau zat antimikroba yang akan diuji dikontakkan dengan mikroorganisme uji dalam media cair. Metode dilusi dibedakan menjadi dua metode umum, yaitu **metode dilusi pengenceran dengan tabung uji (*macrodilution*)** dan **metode dilusi pengenceran dengan *microplate* (*microdilution*)**. Kedua metode berbeda dalam jumlah media cair yang digunakan. Metode dilusi umum digunakan dalam penentuan MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) atau KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) atau KBM (Konsentrasi Bacterisidal Minimal), keduanya sering dilaporkan dalam  $\mu\text{g/mL}$  atau  $\text{mg/L}$ . Nilai KHM menyatakan konsentrasi terendah antibakteri (antimikroba) yang mampu mereduksi viabilitas inokulum sebesar 90% dari inokulum awal (menurunkan 1 log) atau konsentrasi terendah antibakteri (antimikroba) yang tidak menunjukkan pertumbuhan (tidak keruh) pada media cair. Nilai KBM menyatakan konsentrasi terendah antibakteri (antimikroba) yang mampu mereduksi viabilitas inokulum sebesar  $\geq 99,9\%$  atau lebih (menurunkan 3 log atau lebih).

**Metode *Macrodilution*** dikenal pula sebagai metode kontak untuk pengujian kerentanan mikroorganisme terhadap senyawa antimikroba secara in-vitro. Pada metode ini senyawa uji dimasukkan ke dalam media cair steril dengan beberapa seri pengenceran, mulai dari konsentrasi rendah ke tinggi (dua kali lipat konsentrasi awal). Respon yang diamati berdasarkan kekeruhan (turbiditas) yang ditimbulkan oleh pertumbuhan mikroorganisme, seringkali dilanjutkan dengan perhitungan jumlah sel. Cara uji menggunakan metode ini dimulai dengan persiapan mikroorganisme dan media uji. Mikroorganisme uji yang digunakan disegarkan kembali (*refresh*) menggunakan

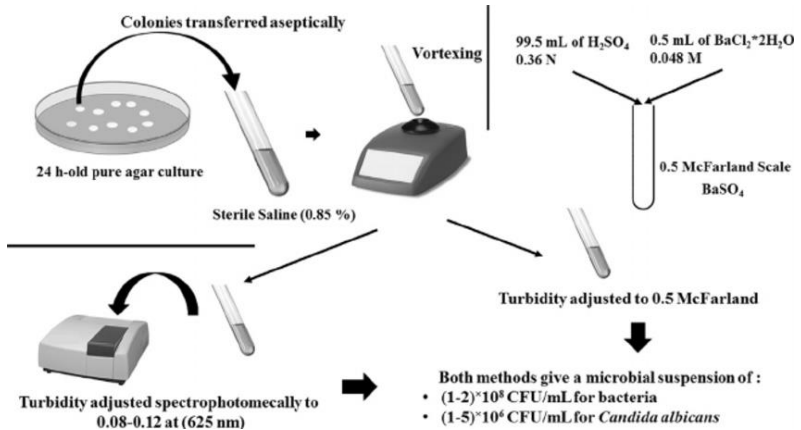


media cair, selain itu dilakukan pembuatan media cair dan disiapkan dalam beberapa tabung kultur (tergantung jumlah seri pengenceran senyawa uji) dengan jumlah minimal 2 mL/tabung. Senyawa uji ditambahkan pada setiap tabung kultur sesuai seri pengenceran, untuk selanjutnya diinokulasikan mikroorganismenya sesuai standar McFarland 0,5 yang setara dengan  $1 \times 10^8 - 2 \times 10^8$  CFU/ml untuk *E. coli*. Seluruh tabung kultur diinkubasi pada suhu  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 24 – 48 jam. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap kekeruhan media cair ataupun dengan menggunakan spektrofotometer dengan membaca *optical density* (OD) media cair (Gambar 27). Dalam penentuan nilai KHM dan KBM dapat langsung ditetapkan, namun seringkali dilakukan konfirmasi dengan penanaman sel dari tabung kultur pada agar cawan baik dengan teknik *pour plate* ataupun teknik *spread plate* untuk menghitung jumlah sel hidup.

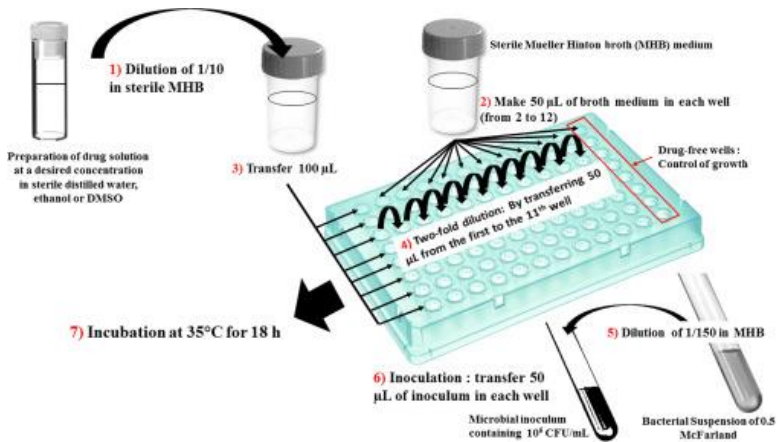


Gambar 27. Ilustrasi Cara Uji Dengan *Macrodilution* (Sumber: [www.microbeonline.com](http://www.microbeonline.com))

**Metode *Microdilution***, metode ini serupa dengan metode *macrodilution*, hanya berbeda pada volume media dan wadah pengujian. Pada *microdilution* volume media yang digunakan hanya 50  $\mu\text{L}$  untuk setiap sumur (*well*) pada *microplate*. Cara uji menggunakan metode ini dimulai dengan persiapan mikroorganisme dan media uji. Mikroorganisme uji yang digunakan disegarkan kembali (*refresh*) menggunakan media cair, selain itu dilakukan pembuatan media cair dan disiapkan dalam sumur pada *microplate* (tergantung jumlah seri pengenceran senyawa uji). Senyawa uji ditambahkan pada setiap tabung kultur sesuai seri pengenceran (dua kali lipat konsentrasi awal), untuk selanjutnya diinokulasikan mikroorganisme uji sesuai standar McFarland 0,5. *Microplate* diinkubasi pada suhu  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 18 – 24 jam. Pengamatan dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan membaca *optical density* (OD) media cair (Gambar 28 dan 29). Dalam penentuan nilai KHM dan KBM dapat langsung ditetapkan, namun seringkali dilakukan konfirmasi dengan penanaman sel dari tabung kultur pada agar cawan baik dengan teknik *pour plate* ataupun teknik *spread plate* untuk menghitung jumlah sel hidup. Metode *microdilutin* digunakan untuk menarik kesimpulan secara kualitatif dalam penentuan KHM dan mudah digunakan untuk pengujian rutin di laboratorium klinis.



Gambar 28. Ilustrasi Cara Penetapan 0,5 McFarland (Sumber: Balouiri dkk, 2016)



Gambar 29. Ilustrasi Cara Uji dengan *Microdilution* (Sumber: Balouiri dkk, 2016)

## Rangkuman

Pengendalian mikroorganisme pada prinsipnya merupakan semua kegiatan yang dapat mencegah, menghambat, dan menghentikan pertumbuhan mikroorganisme. Secara umum alasan utama dilakukannya pengendalian mikroorganisme adalah untuk: mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan kerusakan oleh mikroorganisme.

Suhu tinggi atau panas merupakan faktor penting untuk menghentikan pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Mekanisme inaktivasi perlakuan suhu tinggi adalah dengan menyebabkan denaturasi protein komponen sel mikroorganisme. Aplikasi suhu tinggi yang dapat diterapkan untuk mengendalikan mikroorganisme adalah blansir (*blanching*), pasteurisasi dan sterilisasi. Faktor – faktor yang mempengaruhi ketahanan mikroorganisme terhadap suhu tinggi adalah air, lemak, karbohidrat, protein, keasaman, garam, jumlah sel mikroorganisme, umur/fase dan suhu pertumbuhan, senyawa/komponen penghambat, adanya perlakuan lain dan jenis mikroorganisme.

Penurunan suhu mengakibatkan terhambatnya laju pertumbuhan sel mikroorganisme dan reaksi – reaksi kimia dan biokimia dalam bahan pangan. Mekanisme inaktivasi pada suhu rendah adalah dengan mempengaruhi reaksi metabolisme dalam sel mikroorganisme yang dikatalisis oleh enzim. Kecepatan reaksi tersebut sangat dipengaruhi oleh suhu, dimana pada suhu rendah, maka aktivitas enzim juga rendah. Aplikasi suhu rendah yang dapat diterapkan untuk

pengendalian mikroorganisme adalah: *chilling*, pendinginan dan pembekuan.

Pengendalian Aw berpengaruh terhadap tekanan osmotik sel. Aw rendah merugikan mikroorganisme karena ketiadaan air bebas menyebabkan mikroorganisme tidak dapat melakukan aktivitasnya, yang berujung pada kematian sel. Aplikasi pengendalian Aw yang dapat dilakukan adalah: pengeringan, evaporasi, pembekuan dan penambahan bahan pengikat untuk pengaturan tekanan osmotik bahan seperti penambahan gula dan garam. Faktor – faktor yang mempengaruhi ketahanan mikroorganisme terhadap aplikasi pengendalian Aw adalah kondisi proses, kondisi bahan pangan dan kondisi mikroorganisme.

Iradiasi sering disebut sebagai sterilisasi tanpa aplikasi panas pada bahan pangan. Beberapa jenis radiasi mampu bersifat *lethal* (mematikan) bagi sel mikroorganisme maupun sel organisme lain, seperti memusnahkan kapang, khamir, bakteri dan spora, virus, cacing maupun serangga dan larva. Iradiasi jenis ini merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik (yaitu radiasi ultraviolet (UV), sinar gamma dan sinar X) serta sinar-sinar katode (elektron berkecepatan tinggi). Metode yang banyak diaplikasikan pada industri pangan adalah sinar UV dan sinar gamma ( $\gamma$ ). Faktor – faktor yang mempengaruhi aplikasi iradiasi adalah kondisi proses, kondisi pangan dan kondisi mikroorganisme. Kriteria proses radiasi pangan berdasarkan dosis yang digunakan adalah Radurisasi/*Radurization* (0,5 – 2,5 kGy), Radisidasi/*Radication* (2,5 – 10 kGy) dan Radapertisasi/*Radappertization* (10 – 50 kGy).

Pengendalian atmosfer merupakan penyimpanan bahan pangan dengan cara pengaturan komposisi udara atau pengaturan konsentrasi oksigen ( $O_2$ ), karbondioksida ( $CO_2$ ) dan nitrogen ( $N_2$ ). Pengendalian mikroorganisme dilakukan

dengan CAP, MAP dan pengemasan vakum. Faktor – faktor yang mempengaruhi aplikasi pengendalian atmosfer adalah kondisi proses, kondisi pangan dan kondisi mikroorganisme.

Sanitasi pangan didefinisikan sebagai upaya pencegahan terhadap kemungkinan bertumbuh dan berkembangnya jasad renik pembusuk dan patogen dalam makanan, minuman, peralatan dan bangunan yang dapat merusak pangan dan membahayakan manusia. Sanitasi pangan bertujuan untuk melindungi kesehatan masyarakat melalui pengurangan ataupun penghilangan cemaran dalam bahan pangan. Pada prinsipnya sanitasi adalah upaya yang dilakukan untuk menghindari pertumbuhan mikroorganisme, baik secara fisik maupun secara kimia dengan penggunaan bahan kimia sebagai sanitaiser selama penanganan, pengolahan, penyimpanan dan distribusinya.

Pengawet kimia atau antimikroba sintetis merupakan bahan kimia hasil sintesis yang mempunyai aktivitas menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan pengaruh tertentu, yaitu berbeda bagi kelompok mikroorganisme tertentu. Secara umum senyawa antimikroba ini menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mekanisme berikut, yaitu merusak dinding sel dan menghalangi pembentukan dinding sel, mengubah permeabilitas dinding sel, menghambat kerja enzim dan menghambat sistem asam nukleat dan protein sel. Bahan pengawet sintetis termasuk kelompok pengawet, yaitu BTP yang mampu mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau peruraian lain terhadap produk pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Kelompok ini dikategorikan sebagai BTP yang berfungsi menjaga kesegaran dan mencegah kerusakan produk pangan karena aktivitas mikroorganisme, sehingga bisa meningkatkan masa simpan produk pangan dan tetap aman untuk dikonsumsi.

Tiga kelompok pengawet kimia yang umum digunakan di industri pangan adalah kelompok benzoat, nitrit dan sorbat. Ketiganya sering diperdagangkan dalam bentuk bubuk, karena lebih stabil dalam bentuk garamnya. Selain ketiga pengawet sintetik tadi, pengawet lain yang dapat digunakan adalah propionat, sulfit, asam organik seperti asam asetat, asam laktat dan asam sitrat, monolaurin/gliseryl monolaurat, golongan epoksida, BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluen) dan TBHQ. Kesemua bahan pengawet tersebut batas penggunaannya diatur dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-0222-1995 tentang Bahan Tambah Makanan sesuai prinsip GMP (*Good Manufacturing Practices*).

Selain pengawet kimia, juga dikenal pengawet alami (senyawa antimikroba alami) yang berasal dari tanaman maupun mikroorganisme. Senyawa antimikroba dapat digambarkan sebagai produk alami dengan berat molekul rendah yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah. Senyawa tersebut dibentuk mikroorganisme dan tanaman sebagai metabolit sekunder dan dikenal sebagai komponen bioaktif. Komponen bioaktif ekstrak tanaman yang bersifat antimikroba terdapat dalam dua bentuk utama, yaitu ekstrak nonpolar yang dapat berupa minyak atsiri dan senyawa terpenoid; dan ekstrak polar yang dapat berupa senyawa-senyawa fenolik dan alkaloid. Komponen antimikroba tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel mikroorganisme yang memicu kematian sel. Kerusakan yang ditimbulkan oleh senyawa antimikroba dapat bersifat mikrosidal (kerusakan tetap/membunuh sel) atau mikrostatik (kerusakan yang dapat balik/menghambat sel). Trend pengawet alami di industri pangan adalah penggunaan bakteriosin berupa nisin dan lacticin, rempah-rempah kering berikut minyak atsirinya, seperti pala dan

cengkeh, serta penggunaan bumbu atau herba segar seperti bawang putih, kunyit, kecombrang dan daun kesum. Mekanisme penghambatan komponen bioaktif dari antimikroba alami adalah dengan mengganggu pembentukan dinding sel, bereaksi dengan membran sel, menginaktivasi enzim, dan menginaktivasi fungsi material genetik.

*Hurdle concept* adalah suatu konsep yang dikembangkan dengan mengkombinasikan berbagai metode pengawetan bahan pangan (faktor *hurdle*), dimana setiap faktor tidak cukup untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme perusak dan patogen. Konsep ini kemudian dikenal sebagai *Hürden Technologie* (Jerman) atau *Hurdle Technology* (Inggris). *Hurdle technology* atau teknologi kombinasi proses/pengawetan tidak hanya sekedar mengkombinasikan berbagai metode pengawetan, namun juga dapat digunakan untuk mengoptimalkan efek pengawetan yang diinginkan tanpa memberikan perlakuan pengawetan yang berlebihan. Aplikasi teknologi hurdle harus dapat menjamin keamanan pangan dan stabilitas pangan. Jika intensitas atau konsentrasi hurdle terlalu kecil maka harus ditambah atau diperkuat. Namun, apabila hurdle merusak mutu pangan, misalnya merusak nutrisi, warna dan tekstur, maka harus dikurangi dan ditambah hurdle lain yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme target pada pangan tersebut. Bahan pangan dapat dikelompokkan berdasarkan Aw dan pH-nya menjadi tiga kelompok potensi bahaya, yaitu *high risk food*, *medium risk food*, dan *low risk food*.

Pengujian aktivitas antimikroba umumnya bertujuan untuk mengukur seberapa besar potensi suatu senyawa atau komponen bioaktif dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dibawah kondisi terkontrol. Potensi



antimikroba suatu senyawa menunjukkan kekuatan suatu bahan atau senyawa dalam menghambat/mencegah pertumbuhan sel (mikrostatik) atau membunuh (mikrosidal) sel mikroorganisme. Pada prinsipnya, pengujian potensi antimikroba suatu senyawa adalah membandingkan respon mikroorganisme uji terhadap senyawa uji dalam kondisi yang sama pada senyawa baku pembanding atau baku standar. Metode uji yang dapat digunakan dalam pengujian potensi antimikroba suatu senyawa adalah metode difusi agar (agar *diffusion*), menggunakan media padat (agar) dan metode dilusi (*broth dilution*) menggunakan media cair (broth). Metode difusi agar (agar *diffusion*). Prinsip dari metode ini adalah senyawa atau zat antimikroba yang akan diuji berdifusi dari reservoir (penampung senyawa uji yang bisa berupa cakram atau sumur) ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua metode umum, yaitu metode difusi cakram (*disc diffusion*) dan metode difusi sumur (*well diffusion*). Kedua metode ini tidak jauh berbeda, hanya reservoir senyawa uji yang berbeda. Metode dilusi (*broth dilution*). Prinsip dari metode ini adalah senyawa atau zat antimikroba yang akan diuji dikontakkan dengan mikroorganisme uji dalam media cair. Metode dilusi dibedakan menjadi dua metode umum, yaitu metode dilusi pengenceran dengan tabung uji (*macrodilution*) dan metode dilusi pengenceran dengan *microplate* (*microdilution*). Kedua metode berbeda dalam jumlah media cair yang digunakan.

## Latihan soal

Jawablah pertanyaan-pertanyaan dibawah ini dengan singkat dan jelas!

1. Jelaskan alasan utama dilakukannya pengendalian mikroorganisme!
2. Jelaskan bagaimana pengendalian mikroorganisme dapat menyebabkan kematian sel?
3. Bagaimana mekanisme inaktivasi mikroorganisme pada suhu tinggi?
4. Bagaimana mekanisme inaktivasi mikroorganisme pada suhu rendah?
5. Jelaskan aplikasi pengendalian mikroorganisme dengan pengendalian aktivitas air (Aw)!
6. Jelaskan metode iradiasi yang umum diaplikasikan di industri pangan!
7. Sebutkan aplikasi pengendalian mikroorganisme dengan pengendalian atmosfer!
8. Apa yang dimaksud dengan sanitasi pangan? Berikan contoh aplikasinya!
9. Apa yang dimaksud dengan pengawet kimia sintetis?
10. Jelaskan tiga bahan pengawet utama dalam industri pangan!
11. Apa yang dimaksud dengan senyawa antimikroba alami? Kerusakan sel seperti apa yang dapat disebabkan?
12. Apa yang dimaksud dengan *hurdle technology*?
13. Upaya apa saja yang dapat dilakukan untuk mengubah *high risk food* menjadi *medium risk food*, dan *low risk food*?
14. Jelaskan beberapa metode pengujian antimikroba!
15. Apa yang dimaksud dengan nilai KHM dan KBM?

## **Bab IV Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik**

### **Hasil Pembelajaran Umum**

Mahasiswa menguasai arti penting probiotik, prebiotik dan sinbiotik.

### **Hasil Pembelajaran Khusus**

Mahasiswa menguasai dalam probiotik, prebiotik dan sinbiotik dibahas tentang pengertian dan manfaat dari probiotik dan prebiotik beserta contoh-contohnya. Disini dibahas secara rinci metode pengujian aktivitas prebiotik pada bahan hasil pertanian/perkebunan.

### **Uraian Materi**

Era saat ini bahan pangan tidak hanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan primer yaitu rasa lapar dan pemenuhan zat-zat gizi bagi tubuh, tetapi juga digunakan untuk memenuhi kebutuhan sekunder yaitu citarasa yang baik dan kebutuhan tersier yaitu memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh. Bahan pangan yang mempunyai fungsi fisiologis ini dikenal sebagai bahan pangan fungsional. Istilah pangan fungsional pertama kali diperkenalkan di Jepang sekitar pertengahan tahun 1980-an yang mengacu pada pangan yang diproses dengan memiliki komposisi khusus yang mendukung fungsional sebagai tambahan terhadap gizi. Pada tahun 1991 Kementerian Kesehatan dan Kesejahteraan Jepang memprakarsai kebijakan pertama di dunia mengizinkan komersialisasi makanan fungsional tertentu dengan memperkenalkan undang-undang FOSHU (*Foods of Specified Health Use*) atau Makanan dengan

Penggunaan Kesehatan Tertentu (Arai, 2002). Tahun 1993 beberapa produk makanan mendapatkan izin klaim FOSHU dan produk pertama adalah beras Hipoalergenik (nama pasar “*Fine Rice*”) diproduksi oleh teknologi enzim dan diindustrialisasi (Watanabe dkk., 1990). Produk dengan persyaratan pada Tabel 11 yang dapat dikategorikan sebagai pangan fungsional menurut FOSHU.

Pangan fungsional dianggap sebagai bagian bahan pangan yang memiliki fungsi diet dan memiliki komponen biologi aktif yang berguna untuk meningkatkan kesehatan atau mengurangi resiko penyakit. Pangan fungsional termasuk dalam konsep pangan yang tidak hanya penting bagi kehidupan tetapi juga sebagai sumber mental dan fisik, mendukung pencegahan dan mengurangi faktor resiko sakit untuk beberapa penyakit atau penambahan terhadap fungsi fisiologis tertentu. Menurut Roberfroid (2000) pangan fungsional digunakan untuk meningkatkan fungsi fisiologis tertentu, untuk mencegah atau bahkan menyembuhkan penyakit.

Pangan fungsional adalah pangan yang menguntungkan salah satu atau lebih dari target fungsi-fungsi dalam tubuh seperti halnya nutrisi yang dapat memperkuat mekanisme pertahanan tubuh dan menurunkan risiko terhadap suatu penyakit. BPOM RI mendefinisikan pangan fungsional sebagai pangan yang secara alami maupun buatan telah mengalami proses menjadi produk atau produk olahan, mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasarkan kajian ilmiah memiliki fungsi fisiologis tertentu, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan.

**Tabel 11. Kriteria Pangan Fungsional menurut ‘FOSHU’ Jepang**

Kriteria
1. Makanan (bukan kapsul, pil atau bubuk) dasar yang secara alami ada pada bahan pangan.
2. Dapat dan biasa dikonsumsi sebagai bagian dari diet harian normal
3. Memiliki fungsi tertentu pada manusia seperti: Meningkatkan fungsi system imun Mencegah penyakit tertentu Mendukung pemulihan penyakit tertentu Mengontrol keluhan fisik dan psikis Memperlambat proses penuaan

Lo´pez-Varela dkk. (2002)

Terdapat tiga fungsi dasar yang harus dipenuhi oleh makanan fungsional, yaitu (1) *sensory* (warna dan penampilan menarik, serta cita rasa yang enak), (2) *nutritional* (bernilai gizi tinggi), dan (3) *physiological* (memberikan pengaruh fisiologis yang menguntungkan bagi tubuh). Beberapa fungsi fisiologis yang diharapkan antara lain, pencegahan timbulnya bahaya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, regulasi kondisi ritme fisik tubuh, memperlambat proses penuaan, dan penyehatan kembali dari sakit (*recovery*).

Dekade ini perkembangan pangan fungsional tidak hanya sebatas makanan alami seperti strawberi dan bawang putih atau rempah-rempah seperti jahe (*Zingiber officinale*), Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr), andaliman (*Zanthoxylum acanthopodicum*), antarasa (*Litsea cubeba*), kecombrang (*Nicolai speciosa* Horan), tapak liman (*Elephantopus scaber* L.), kedondong laut (*Polyscias obtusa*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), kapulaga (*Amomum cardamomum*), serai (*Cymbopogon fleuopsus*),

sirsak (*Anona muricata*) dan kunyit (*Curcuma* sp.) (Djati dan Christina, 2019). Namun telah berkembang beberapa metode untuk memperoleh pangan fungsional diantaranya adalah penambahan atau penghilangan suatu komponen, modifikasi pengolahan pangan, rekayasa genetika dan lain sebagainya yang memungkinkan industri pangan mengembangkan produk baru yang memiliki nilai tambah bagi pasar. Selama ini komponen terpenting yang bisa ditambahkan ke dalam makanan adalah probiotik, prebiotik, sinbiotik dan senyawa gizi (mineral, vitamin, asam lemak dan atau serat pangan). Beberapa mikronutrien telah banyak ditambahkan pada beberapa makanan dipasaran seperti sereal sarapan, jus dan produk susu dan turunannya karena peranannya yang penting dalam mencegah suatu penyakit atau meningkatkan kesehatan. Pada Tabel 12 di bawah ini dapat dilihat beberapa nutrien dan komponen makanan dengan sifat fungsionalnya.

**Tabel 12. Nutrien dan Komponen Makanan dengan Sifat Fungsional**

<b>Nutrien</b>	<b>Fungsi</b>	<b>Penyakit Terkait</b>
Serat pangan	Pengatur keseimbangan total bakteri	Kanker kolon
	Perbaikan system transit di usus	Sembelit/Divertikulosis
	Pengenceran agen karsinogenik	Hiperkolesterolemia
	Peningkatan ekskresi garam empedu	Diabetes
	Penurunan kolesterol plasma	Obesitas
	Pengaturan kadar glukosa darah	Diabetes
	Antioksidan, vitamin A, E dan C, flavonoid	Eliminasi radikal bebas (perlindungan terhadap kerusakan oksidatif sel) Menghambat peroksidasi lipid

Bakteri laktat	Peningkatan daya cerna laktosa Peningkatan penyerapan kalsium Stimulasi sistem kekebalan (imun)	Intoleransi laktosa Sembelit/diare Gastro-enteritis Kanker
Asam lemak omega-3	Penurunan trigliserida dan kadar kolesterol LDL Pengurangan agregasi trombosit Stimulasi sistem kekebalan (imun)	Penyakit kardiovaskular
Mikronutrien: Se, Fe, Cu, Zn, Mn, Ca, Fe, Folat	Kofaktor enzim Stimulasi system kekebalan (imun)	Penyakit kardiovaskular Kanker Osteoporosis Anemia
Asam amino: triptopan tiramin glutamin arginin cistein	Efek hipnotis dan menenangkan Peningkatan memori Penyembuhan kelelahan mental Stimulasi sistem kekebalan (imun) Perlambatan proses penuaan	Pola tidur Stres
Caffeine	Stimulasi sistem saraf pusat	

Lo'pez-Varela dkk. (2002)

Perkembangan penggunaan bahan pangan fungsional berjalan seiring dengan kesadaran masyarakat atas kebutuhan hidup sehat dan perbaikan kualitas hidup. Prevalensi terhadap berbagai penyakit saluran pencernaan semakin meningkat dipicu dengan perubahan gaya dan perilaku konsumen dalam mengkonsumsi bahan pangan. Sehingga menjadi trend yang dikembangkan saat ini adalah produk pangan yang mengandung probiotik atau prebiotik, atau gabungan keduanya dalam satu produk yang dikenal sebagai pangan sinbiotik. Pangan fungsional meliputi

pangan konvensional yang berisi unsur bioaktif (seperti oligosakarida dan serat pangan), pangan yang diperkaya dengan unsur bioaktif (seperti probiotik dan antioksidan), dan komposisi pangan yang disintesa dikenal dengan pangan tradisional (seperti prebiotik).

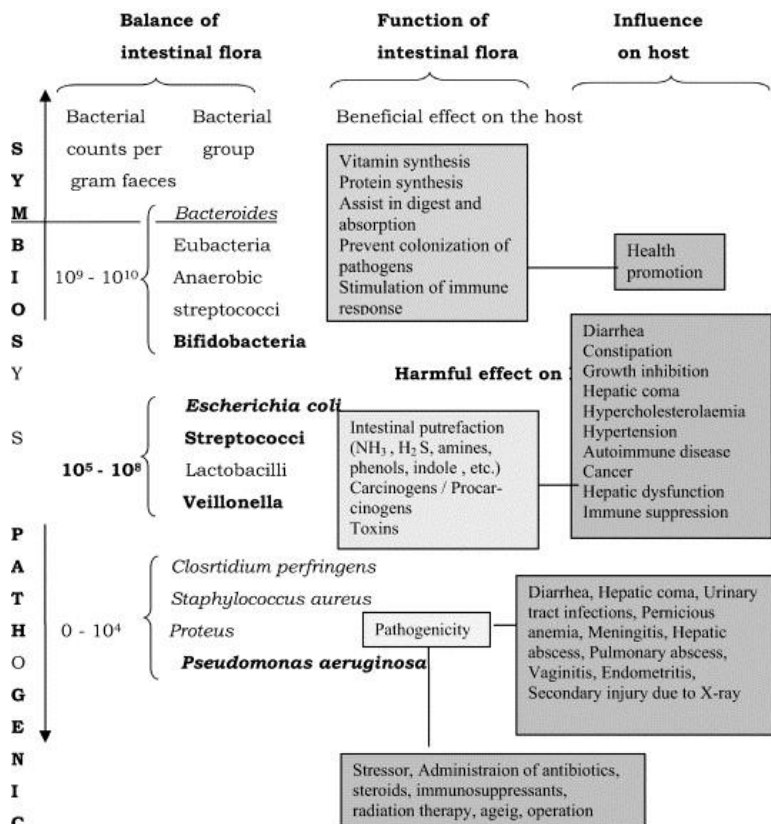
## 1. Probiotik

Mikrobiota usus manusia merupakan ekosistem kompleks yang mengandung sekitar 1014 mikroorganisme milik lebih dari 2.000 spesies (Mitsuoka, 1982; Eckburg dkk., 2005; Dethlefsen dkk., 2006; Lozupone dkk., 2012). Mikrobiota usus adalah ekosistem yang kompleks, dimana di dalam usus manusia ditemukan 11.831 *strain* bakteri dari 1.524 *family*. Bakteri usus dikelompokkan menjadi 3 macam, yaitu berbahaya, bermanfaat dan netral terhadap kesehatan manusia (Gambar 30). Bakteri yang termasuk bakteri bermanfaat adalah *Bifidobacterium* dan *Lactobacilli*. Sedangkan bakteri berbahaya adalah *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Proteus* dan *Bacteriodes*. Bakteri tersebut menghasilkan beberapa substansi berbahaya, seperti amine, indol, hidrogen sulfida, fenol dari makanan dan dapat menyebabkan gangguan di dalam sistem pencernaan. Bakteri ini juga dapat bersifat patogenik (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001).

Probiotik berasal dari kata probios yang berarti kehidupan. Probiotik menurut organisasi WHO dan FAO dalam konferensi tahun 2002 didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah cukup dan mampu berkolonisasi serta dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Makanan Probiotik adalah makanan yang berisi mikroorganisme probiotik hidup dalam jumlah cukup, yang setelah dikonsumsi dapat memberikan manfaat kesehatan



tambahan yang berasal dari probiotik. Sejak tahun 1920 para ahli melanjutkan penelitian mengenai manfaat bakteri terhadap kesehatan. Pada tahun 1935-an, strain *L. acidophilus* ditemukan mampu aktif jika diimplantasikan dalam usus halus manusia. Selanjutnya setelah kurun waktu lebih dari 40 tahun diperoleh banyak sekali manfaat dari penggunaan bakteri sebagai probiotik.



Gambar 30. Hubungan antara bakteri usus dengan kesehatan manusia (Lourens-Hatting & Viljoen, 2001)

Mikroorganisme probiotik umumnya dikonsumsi dalam bentuk makanan (fermentasi dan non fermentasi) atau suplemen makanan berbentuk serbuk, tablet atau kapsul (Tripathi dan Giri, 2014). Untuk berperan sebagai probiotik, mikroorganisme harus mempunyai viabilitas yang tinggi sehingga dapat bertahan hidup, tumbuh dan aktif dalam sistem pencernaan, berasal dari genus yang aman dikonsumsi, tahan terhadap asam lambung, garam empedu (*bile acid*), kondisi anaerob, mampu tumbuh dengan cepat dan menempel (melakukan kolonisasi) pada dinding saluran pencernaan, mampu menghambat atau membunuh bakteri patogen, stabil secara genetik, mudah diperbanyak serta memiliki viabilitas tinggi selama penyimpanan atau pengolahan (Ziemer dkk., 1998; Kimoto dkk., 2003; Trachoo dan Boudreaux, 2006).

Menurut *International Dairy Federation* (IDF), jumlah probiotik minimal dalam produk pangan ketika dikonsumsi dan aktif di dalam saluran pencernaan yaitu  $10^7$  CFU/ml. Namun *Food and Agriculture Organization* (FAO) menyatakan bahwa jumlah minimum bakteri probiotik dalam bioproduk agar dapat memberikan manfaat kesehatan adalah  $10^9$ – $10^{10}$  CFU/g produk. Sebagian dari manfaat penggunaan probiotik tersebut adalah:

- a. Mengatur pH makanan,
- b. Memperbaiki fungsi saluran pencernaan,
- c. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh,
- d. Mencegah infeksi,
- e. Menurunkan kadar kolesterol,
- f. Mengatasi masalah *lactose intolerance*, dan
- g. Membunuh sel-sel tumor dan kanker.

Selanjutnya konsep probiotik telah mengalami beberapa perubahan definisi seiring dengan perkembangan hasil penelitian ilmiah tentang pengaruh, mekanisme kerja,

dan aplikasinya. Definisi probiotik terbaru menyatakan bahwa probiotik adalah sediaan sel mikroorganisme hidup atau komponen dari sel mikroorganisme yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inang (*host*)-nya.

**Tabel 13. Mikroorganisme Probiotik**

Genus Bakteri Probiotik	Spesies
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L.</i> <i>gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Bacillus</i> [98]	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>
<i>Lactococcus</i> [99]	<i>L. lactis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S.</i> <i>thermophilus</i> , <i>S. salivarius</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B.</i> <i>animalis</i> , <i>B. bifidum</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i>

Kerry dkk. (2018)

Probiotik dapat berupa bakteri Gram positif, Gram negatif, khamir atau fungi. Namun mikroorganisme – mikroorganisme yang umum digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman probiotik terutama berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan Gram positif. BAL sering digunakan sebagai probiotik karena kebanyakan strainnya tidak patogen, bahkan beberapa strain telah mendapatkan status *Generally Recognized As Safe*

(GRAS) dari *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat. Selain itu, kemampuannya untuk hidup di dalam saluran pencernaan dapat menekan pertumbuhan bakteri enterik sehingga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh dan potensi ini yang menyebabkan BAL digunakan sebagai probiotik. Beberapa genus bakteri yang termasuk BAL yaitu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Zat-zat antimikroba tersebut yaitu asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil serta bakteriosin. Beberapa strain BAL yang berpotensi sebagai probiotik antara lain *L. reuteri*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* dan *B. bifidum*. Daftar selektif spesies bakteri berbeda yang secara aktif digunakan sebagai probiotik tercantum dalam Tabel 13.

Penelitian mengenai BAL sebagai probiotik telah dilakukan baik pada galur bakteri itu sendiri atau pada produk pangan yang mengandung bakteri tersebut. Produk pangan yang umum diteliti adalah produk susu, termasuk susu fermentasi seperti yoghurt dan susu non-fermentasi yang ditambahkan kultur mikroorganisme kedalamnya. Produk probiotik dapat berisi satu spesies mikroorganisme (*single microorganism*) atau campuran beberapa jenis spesies (*mixed microorganism*). Salah satu pengaruh probiotik yang menguntungkan bagi kesehatan adalah mempertahankan keseimbangan mikroflora usus. Mikroflora usus adalah ekosistem yang kompleks, yang terdiri dari berbagai jenis bakteri dalam jumlah yang besar. Aktivitas dan kapasitas metabolik bakteri yang hidup di usus sangat beragam dan dapat memberikan pengaruh positif maupun negatif pada fisiologi usus. Probiotik menyehatkan

lingkungan usus dengan mekanisme sebagai berikut: 1). Probiotik dalam usus akan menghasilkan metabolit berupa *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dan bakteriosin. SCFA dan bakteriosin dapat menghambat pertumbuhan atau pembunuhan terhadap patogen, asam asetat dan asam laktat dapat menurunkan pH lingkungan usus sehingga tidak cocok untuk kolonisasi patogen, sedangkan asam butirat mampu menginduksi katalisidin yang merupakan peptida antimikrobal di dalam usus (Ohland and Wallace 2010); 2). Memodulasi mucus dan IgA (Surono dkk., 2011); dan 3). Meningkatkan penyerapan gizi dan berat badan (Saran dkk., 2002; Surono dkk., 2011; Agustina dkk., 2013). Konsumsi probiotik *indigenous powder Lactobacillus plantarum* Dad-13 dengan total sel hidup  $10^9$  CFU/gram setiap hari selama 60 hari secara signifikan dapat meningkatkan Indeks Massa Tubuh (IMT) anak-anak malnutrisi status kurus (gizi kurang) di Belanting, Lombok Timur (Mustangin, 2018).

Secara umum fungsi probiotik serupa dengan antibiotik yaitu dapat meningkatkan kesehatan. Bedanya, mekanisme kerja antibiotik langsung membunuh mikroorganisme target dan meninggalkan residu dalam jaringan tubuh, sedangkan probiotik menekan pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan merangsang mikroorganisme sejenis serta tidak meninggalkan residu dalam jaringan. Beberapa manfaat probiotik dalam tubuh adalah sebagai berikut:

- a. Mencegah terjadinya kanker yaitu dengan menghilangkan bahan *prokarsinogen* (bahan penyebab kanker) dari tubuh dan mengaktifkan sistem kekebalan tubuh,
- b. Menghasilkan bahan aktif anti tumor,
- c. Memproduksi berbagai vitamin B, yaitu thiamin (B1), riboflavin (B2), piridoksin (B6), asam folat,

sianokobalamin (B12) yang mudah diserap ke dalam tubuh,

- d. Kemampuannya memproduksi asam laktat dan asam asetat di usus dapat menekan pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Clostridium perfringens* penyebab radang usus dan menekan bakteri patogen lainnya, serta mengurangi penyerapan amonia dan amina, serta
- e. Berperan dalam penurunan kadar kolesterol, dimana bifidobakteria menghasilkan *niasin* yang memberi kontribusi terhadap penurunan kolesterol tersebut.

Penggunaan probiotik untuk manfaat kesehatan klinis adalah bidang penelitian menarik yang belum dieksplorasi oleh era saat ini. Beberapa sifat dari probiotik adalah anti-patogenik, perawatan kesehatan urogenital, anti-diabetes, anti-obesitas, anti-inflamasi, anti-kanker, anti-alergi, aktivitas angiogenik serta pengaruhnya terhadap otak dan sistem saraf pusat (SSP) (Kerry dkk., 2018).

## 2. Prebiotik

Konsep prebiotik pertama kali didefinisikan pada tahun 1995 sebagai "bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang secara menguntungkan mempengaruhi inang dengan secara selektif merangsang pertumbuhan dan / atau aktivitas satu atau sejumlah bakteri yang sudah tinggal di usus besar" (Gibson & Roberfroid, 1995). Pada tahun 2004, definisi prebiotik diubah menjadi "bahan yang difermentasi secara selektif yang memungkinkan perubahan spesifik, baik dalam komposisi dan / atau aktivitas dalam mikroflora gastrointestinal yang memberikan manfaat pada kesejahteraan dan kesehatan inang" (Gibson dkk., 2004). Sesuai definisi ini, tiga kriteria diperlukan untuk prebiotik: 1). kemampuan tahan terhadap pencernaan inang (misalnya keasaman lambung, hidrolisis oleh enzim mamalia dan

absorpsi pada gastrointestinal); 2). bahwa prebiotic dapat difermentasi oleh mikroorganismenya usus; dan 3). secara selektif merangsang pertumbuhan dan / atau aktivitas bakteri usus yang terkait dengan kesehatan dan kesejahteraan. Sehingga, perlu adanya penelitian secara *in vitro* untuk membuktikan dan mengidentifikasi mekanisme efek prebiotik pada kesehatan inangnya. Namun, seiring berkembangnya konsep prebiotik, begitu pula penerapannya pada situs ekstraintestinal. Organisasi Pangan dan Pertanian (FAO) Perserikatan Bangsa-Bangsa (PBB) menyelenggarakan Pertemuan Teknis untuk memperbarui definisi prebiotik pada tahun 2008. Panel ini mengusulkan agar prebiotik didefinisikan ulang sebagai "komponen makanan yang tidak dapat hidup yang memberikan manfaat kesehatan pada host terkait dengan modulasi mikrobiota" (Pineiro/FAO, 2008). Di sini, fermentasi selektif telah dihapus sebagai kriteria, tetapi dengan melakukan itu definisi tersebut dikritik karena tidak mengecualikan antibiotik. Gibson dkk. (2010) mendefinisikan kategori yang lebih sempit dari 'prebiotik makanan' sebagai "bahan yang difermentasi secara selektif yang menghasilkan perubahan spesifik dalam komposisi dan / atau aktivitas mikrobiota gastrointestinal, sehingga memberi manfaat pada kesehatan inang".

Pengertian prebiotik berkembang seiring dengan perkembangan hasil penelitian ilmiah menjadi "substrat yang digunakan secara selektif oleh mikroorganismenya inang yang memberikan manfaat kesehatan" (Gibson dkk., 2017). Efek kesehatan dari prebiotik sedang berkembang, hingga saat ini termasuk manfaat untuk saluran pencernaan (misalnya, penghambatan patogen, stimulasi kekebalan), kardiometabolisme (misalnya, penurunan kadar lemak darah, efek pada resistensi insulin), kesehatan mental

(misalnya, metabolit) yang mempengaruhi fungsi otak, energi dan kognisi) dan tulang (misalnya, ketersediaan hayati mineral).

Bahan pangan yang diklasifikasikan sebagai prebiotik harus mempunyai sifat berikut, yaitu:

- a. Tahan terhadap pencernaan di bagian atas saluran cerna,
- b. Terfermentasi oleh mikroorganisme dalam usus besar (kolon),
- c. Berpengaruh baik bagi kesehatan inangnya,
- d. Selektif mendorong pertumbuhan bakteri probiotik, dan
- e. Stabil terhadap perlakuan proses seperti panas, pH rendah, dan reaksi Maillard.

Suatu ingredien tidak dapat disebut sebagai prebiotik bila bahan tersebut didegradasi oleh asam lambung dalam saluran pencernaan dan difermentasi oleh mikroorganisme tetapi tidak selektif. Suatu bahan juga tidak dapat disebut sebagai prebiotik bila hanya diuji pada hewan percobaan saja tetapi belum diujikan pada manusia. Selain itu juga, jika secara kimia mengandung ketidakmurnian yang bukan merupakan sifat prebiotik, serta jika jumlah yang dikonsumsi tidak cukup untuk memberikan keuntungan yang dapat diukur.

Prebiotik harus digunakan secara selektif dan memiliki bukti manfaat kesehatan yang memadai untuk inang target. Prebiotik yang paling banyak didokumentasikan memiliki manfaat kesehatan pada manusia adalah oligosakarida fruktan dan galaktan yang tidak dapat dicerna yaitu FOS (*fructooligosaccharides*) dan GOS (*galactooligosaccharides*). Prebiotik lainnya yang sudah diterima berdasarkan bukti penelitian yang ada adalah oligosakarida pada air susu ibu atau dikenal *Human milk oligosaccharides* (HMOs), inulin, MOS (*mannan oligosaccharide*), XOS (*xylooligosaccharide*),



CLA (*conjugated linoleic acid*), PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) dan serat pangan (mudah terfermentasi) (Gibson dkk., 2017). Beberapa contoh prebiotik, bersama dengan sumber alaminya dan mikrobiota fermentatif yang terkait disajikan pada Tabel 14.

**Tabel 14. Prebiotik dan Sumbernya**

<b>Prebiotik</b>	<b>Sumber Alami</b>
Frukto-oligosakarida	Bawang, Leek, Asparagus, Chicory, Jerusalem artichoke, Bawang Putih, Gandum, Oat
Inulin	Pisang, Agave, <i>Chicory</i> , <i>Yakon</i> , Bawang Putih, Jerusalem artichoke
Isomalto-oligosakarida	<i>Miso</i> , Kacang Kedelai, Saus, Sake, Madu
Laktosa	Susu skim
Laktosukrosa	Gula susu
Galakto-oligosakarida	Miju-miju, susu manusia, buncis / hummus, kacang hijau, kacang lima, kacang merah
<i>Soybean oligosaccharide</i>	Kacang kedelai
Xilo-oligosakarida	Rebung, Buah, Sayuran, Susu, Madu
Frukto-oligosakarida	Bawang, Chicory, Bawang Putih, Asparagus, Pisang, Artichoke
<i>Arabinoxylan</i>	Dedak rumput
<i>Arabinoxylan oligosaccharides</i>	Sereal
Pati resiten-1,2,3,4	Kacang / polong-polongan, buah-buahan dan sayuran bertepung (misalnya pisang), biji-bijian utuh

Kerry dkk. (2018)

### 3. Sinbiotik

Salah satu jenis pangan fungsional yang akhir-akhir ini sedang berkembang yaitu pangan yang mengandung gabungan dari prebiotik dan probiotik, yang disebut sebagai pangan sinbiotik. Menurut Swanson dkk. (2020) definisi sinbiotik adalah “campuran yang terdiri dari mikroorganisme hidup dan substrat yang secara selektif digunakan oleh mikroorganisme inang yang memberikan manfaat kesehatan pada inang”. Mikroorganisme 'inang' terdiri dari mikroorganisme asli (menetap atau berkolonisasi di inang) dan mikroorganisme *alochthonous* (diaplikasikan secara eksternal, seperti probiotik), yang salah satunya dapat menjadi target untuk substrat yang terkandung dalam sinbiotik.

Ada dua kategori sinbiotik, yaitu sinbiotik sinergi dan sinbiotik komplementer. 'Sinbiotik sinergis' adalah sinbiotik di mana substrat dirancang untuk digunakan secara selektif oleh mikroorganisme yang diberikan bersama (probiotik/mikroorganisme *alochthonous*). 'Sinbiotik komplementer' adalah sinbiotik yang terdiri dari probiotik yang dikombinasikan dengan prebiotik, yang dirancang untuk menargetkan mikroorganisme asli (Swanson dkk., 2020).

Di dalam produk pangan sinbiotik, terdapat sinergi antara prebiotik dan probiotik. Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam prebiotik digunakan oleh probiotik sebagai sumber karbon atau sumber energi di dalam kolon. Sebagai hasilnya adalah meningkatnya jumlah probiotik yang terdapat di dalam kolon dan menurunnya bakteri patogen yang terdapat di dalam usus. Aplikasi gabungan dari probiotik dan prebiotik dalam satu produk pangan (sinbiotik) ini bermanfaat bagi inang karena mendukung ketahanan dan keberadaan mikroorganisme baik (probiotik) untuk hidup dalam saluran pencernaan. Contoh produk

sinbiotik yang telah ada di pasaran dalam dan luar negeri yaitu susu, yoghurt, keju, dan es krim.

Manfaat kesehatan yang diklaim oleh konsumsi sinbiotik oleh manusia antara lain: 1) Peningkatan kadar *lactobacilli* dan *bifidobacteria* serta keseimbangan mikrobiota usus, 2) Peningkatan fungsi hati pada pasien sirosis, 3) Peningkatan kemampuan imunomodulasi, 4) Pencegahan translokasi bakteri dan penurunan insiden infeksi nosokomial pada pasien bedah, dan lain-lain (Zhang dkk., 2010).

Yoghurt adalah hasil fermentasi susu menggunakan bakteri asam laktat (umumnya kombinasi bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*) yang mempunyai cita rasa khas karena mengandung komponen flavor seperti diasetil, asetaldehid dan karbondioksida. Saat ini telah dikembangkan ratusan strain bakteri lainnya dengan segala kelebihannya. Kandungan asam yoghurt cukup tinggi, sedikit atau tidak mengandung alkohol, mempunyai tekstur semi padat atau *smooth*, kompak serta rasa asam yang segar. Buah-buahan, perasa dan aroma oleh industri seringkali ditambahkan pada yoghurt untuk meningkatkan nilai jual. Bahan dasar pembuatan yoghurt umumnya adalah susu sapi murni atau susu skim (bentuk bubuk). Produk yoghurt sinbiotik merupakan jenis produk olahan pangan dengan penambahan prebiotik dan probiotik selain *starter* yang digunakan. Produk yoghurt sinbiotik komersial umumnya mengandung prebiotik berupa inulin, FOS dan GOS, sedangkan probiotik yang umum ditambahkan adalah kelompok BAL seperti *Bifidobacterium*, *L. acidophilus* dan *L. plantarum*.

Karakteristik produk yoghurt dapat dikelompokkan berdasarkan sifat fisik, kimia, mikrobiologi, dan organoleptik. Karakteristik yoghurt meliputi karakteristik

fisik yang meliputi pH dan viskositas, karakteristik kimia yang meliputi total asam tertitrasi, kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein dan kadar karbohidrat, karakteristik mikrobiologi meliputi viabilitas BAL dan total kapang-khamir, serta karakteristik organoleptik seperti warna, aroma, tekstur (*mouthfeel*), konsistensi dan rasa (*taste*). Imelda dkk. (2020) melaporkan *yoghurt drink* dengan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L) sebagai sumber prebiotik memiliki total BAL sebesar  $1,0 \times 10^8 - 2,1 \times 10^8$  CFU/mL dan TAT (total asam tertitrasi) sebesar 0,029 – 0,306%.

#### 4. Pengujian Aktivitas Prebiotik

Prebiotik pada umumnya adalah karbohidrat yang tidak dicerna dan tidak diserap biasanya dalam bentuk oligosakarida dan serat pangan. Kandungan karbohidrat yang tinggi pada suatu bahan memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai sumber prebiotik baru diantaranya kemungkinan terdapat senyawa oligosakarida. Serat pangan juga diketahui sebagai salah satu sumber prebiotik selain senyawa oligosakarida yang mungkin terdapat di dalam bahan. Potensi suatu bahan pangan sebagai sumber prebiotik dapat dilihat berdasarkan aktivitas prebiotiknya ataupun uji viabilitas kelompok probiotik.

Uji aktivitas prebiotik didasarkan pada perubahan biomassa sel setelah 24 jam pertumbuhan galur probiotik pada 1% prebiotik atau 1% glukosa relatif terhadap perubahan biomassa sel dari campuran galur enterik yang tumbuh di bawah kondisi yang sama (Huebner dkk., 2007). Aktivitas prebiotik menunjukkan kemampuan dari substrat yang diberikan untuk meningkatkan pertumbuhan dari bakteri probiotik terhadap bakteri enterik dan relatif pertumbuhan pada substrat non prebiotik seperti glukosa.

Karbohidrat yang mempunyai aktivitas prebiotik positif jika:

- 1) dimetabolisme sebaik glukosa oleh bakteri probiotik dan
- 2) spesifik dimetabolisme oleh probiotik tetapi tidak oleh bakteri dalam usus lainnya. Nilai aktivitas prebiotik dihitung dengan rumus:

$$= \left\{ \begin{array}{l} \text{Log probiotik pada prebiotic 24jam} - \text{log probiotik pada prebiotik 0 jam} \\ \text{Log probiotik pada glukosa 24jam} - \text{log probiotik pada glukosa 0 jam} \end{array} \right\} \\ - \left\{ \begin{array}{l} \text{Log enterik pada prebiotic 24jam} - \text{log enterik pada prebiotik 0 jam} \\ \text{Log enterik pada glukosa 24jam} - \text{log enterik pada glukosa 0 jam} \end{array} \right\}$$

Menurut definisi berdasarkan persamaan di atas, substrat dengan skor aktivitas prebiotik yang tinggi mendukung pertumbuhan yang baik dari bakteri probiotik, dengan kepadatan sel (cfu/mL) yang sebanding dengan saat ditumbuhkan pada glukosa. Namun, kepadatan sel dari strain enterik yang ditumbuhkan pada prebiotik seharusnya, secara teori, sangat rendah dibandingkan dengan pertumbuhan pada glukosa. Dengan menggunakan persamaan ini, skor aktivitas prebiotik dari oligosakarida tertentu dapat ditentukan relatif terhadap strain (probiotik) tertentu (Huebner dkk., 2007).

Nilai aktifitas prebiotik positif menunjukkan bahwa prebiotik dapat digunakan oleh probiotik sama baiknya pada glukosa dan metabolismenya itu khusus oleh probiotik tertentu tapi tidak oleh bakteri usus lain sedangkan aktifitas prebiotik bernilai negatif berarti bakteri enterik mengalami pertumbuhan yang lebih besar pada prebiotik dibandingkan dengan probiotik pada substrat yang sama. Secara umum, skor tergantung pada strain bakteri probiotik yang diuji dan jenis karbohidrat prebiotik yang digunakan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya nilai aktivitas prebiotik positif pada tepung serat bengkuang terhadap *B. longum* setelah 48 jam inkubasi (Purwandani, 2011), PLA

(Polisakarida Larut Air) biji durian terhadap bakteri *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *B.longum* setelah 24 jam inkubasi (Purwandani dkk., 2018) dan tepung nipah (*Nypa fruticans*) terhadap *L. plantarum* setelah 24 jam dan 48 jam inkubasi (Mustangin dan Purwandani, 2019).

## Rangkuman

Perkembangan penggunaan bahan pangan fungsional berjalan seiring dengan kesadaran masyarakat atas kebutuhan hidup sehat dan perbaikan kualitas hidup. Prevalensi terhadap berbagai penyakit saluran pencernaan semakin meningkat dipicu dengan perubahan gaya dan perilaku konsumen dalam mengkonsumsi bahan pangan. Pangan fungsional yang saat ini sedang *trend* dikembangkan yaitu produk pangan yang mengandung probiotik atau prebiotik, atau gabungan keduanya dalam satu produk yang dikenal sebagai pangan sinbiotik. Pangan fungsional adalah pangan yang secara alami maupun buatan telah mengalami proses menjadi produk atau produk olahan, mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasarkan kajian ilmiah memiliki fungsi fisiologis tertentu, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan.

Probiotik adalah sediaan sel mikroorganisme hidup atau komponen dari sel mikroorganisme yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inang (*host*)-nya. Probiotik dapat berupa bakteri Gram positif, Gram negatif, khamir atau fungi. Namun mikroorganisme – mikroorganisme yang umum digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman probiotik terutama berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan Gram positif.

Prebiotik adalah bahan pangan yang terfermentasi secara selektif yang menyebabkan perubahan spesifik baik terhadap komposisi maupun aktivitas mikroflora dalam gastrointestinal yang memberikan keuntungan pada kesehatan inangnya. Prebiotik pada umumnya adalah karbohidrat yang tidak dicerna dan tidak diserap biasanya dalam bentuk oligosakarida dan serat pangan. Kelompok oligosakarida meliputi inulin, fructo-oligosakarida (FOS), galactooligosakarida, dan laktosa.

Pangan sinbiotik adalah produk pangan dimana di dalamnya terdapat sinergi antara prebiotik dan probiotik. Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam prebiotik digunakan oleh probiotik sebagai sumber karbon atau sumber energi di dalam kolon. Sebagai hasilnya adalah meningkatnya jumlah probiotik yang terdapat di dalam kolon dan menurunnya bakteri patogen yang terdapat di dalam usus. Aplikasi gabungan dari probiotik dan prebiotik dalam satu produk pangan (sinbiotik) ini bermanfaat bagi inang karena mendukung ketahanan dan keberadaan mikroorganisme baik (probiotik) untuk hidup dalam saluran pencernaan.

Aktivitas prebiotik menunjukkan kemampuan dari substrat yang diberikan untuk meningkatkan pertumbuhan dari bakteri probiotik terhadap bakteri enterik dan relatif pertumbuhan pada substrat non prebiotik seperti glukosa.

### **Latihan Soal**

Jawablah pertanyaan-pertanyaan berikut dengan singkat dan jelas!

1. Apa yang dimaksud dengan pangan fungsional?
2. Apa yang dimaksud dengan probiotik? Sebutkan manfaat dan contohnya!

3. Apa yang dimaksud dengan prebiotik? Berikan contohnya!
4. Sebutkan kriteria bahan pangan sebagai prebiotik!
5. Apa yang dimaksud dengan pangan sinbiotik? Berikan contohnya!
6. Apa yang dimaksud dengan aktivitas prebiotik? Tuliskan rumus perhitungan aktivitas prebiotik!
7. Sebutkan bakteri enterik dan bakteri probiotik yang dapat digunakan pada perhitungan seperti definisi aktivitas prebiotik!
8. Sebutkan penelitian yang sudah dilakukan oleh dosen pengajar yang menunjukkan bahan yang diuji mempunyai potensi sebagai prebiotik!



## **Bab V**

# **Cemaran Jamur dan Mikotoksin Dalam Bahan Pangan**

### **Hasil Pembelajaran Umum**

Mahasiswa menguasai tentang cemaran jamur (kapang) dan mikotoksin dalam bahan pangan.

### **Hasil Pembelajaran Khusus**

Mahasiswa menguasai tentang cemaran kapang dan mikotoksin pangan terkait perkembangan mikotoksikosis dan kapang penyebabnya serta media tumbuh kapang, beberapa mikotoksin penting beserta standar batas cemarannya dalam bahan hasil pertanian/perkebunan dan olahannya.

### **Uraian Materi**

Mikologi berasal dari bahasa Yunani, *mykes* (jamur benang/*mold*) dan *logos* (ilmu). Istilah mikologi digunakan untuk menerangkan ilmu yang mempelajari tentang jamur atau kapang. Dalam mikologi dikenal istilah mikotoksin, yang sering dikenal sebagai toksin yang dihasilkan oleh kapang. Mikotoksin merupakan senyawa organik beracun yang berasal dari hasil metabolisme sekunder kapang. Lebih dari 150 spesies kapang dilaporkan memproduksi mikotoksin dan setiap spesies umumnya dapat menghasilkan lebih dari satu jenis mikotoksin. Satu jenis mikotoksin dapat dihasilkan lebih dari satu spesies kapang. Akan berbahaya jika bahan pangan tercemar oleh berbagai jenis kapang dan menghasilkan campuran mikotoksin (*mycotoxin cocktails*).

Dalam mikologi dikenal pula istilah mikosis dan mikotoksikosis, keduanya adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan penyakit yang ditimbulkan oleh kapang. Mikosis merupakan infeksi yang disebabkan oleh kapang, mikosis terjadi tidak melalui bahan pangan melainkan melalui kulit atau lapisan epidermis, rambut dan kuku akibat sentuhan, pakaian atau terbawa angin. Mikotoksikosis merupakan penyakit yang disebabkan tertelannya metabolik beracun (mikotoksin) bersama bahan pangan yang dikonsumsi. Istilah ini pertama kali disampaikan oleh Forgacs dan Carll (1962), yang menyebutkan “terjadinya keracunan pada inang dengan masuknya suatu zat toksis dalam tubuh yang berasal dari kapang”. Mikotoksikosis terjadi dengan bahan pangan sebagai *vehicle* dan secara umum toksisitas mikotoksin adalah kronis. Jalur terkonsumsinya dapat secara primer ataupun sekunder. Jalur primer jika paparan mikotoksin terjadi melalui konsumsi bahan pangan yang tercemar mikotoksin seperti jagung dan kacang-kacangan, sedangkan jalur sekunder jika paparan mikotoksin terjadi melalui konsumsi bahan pangan olahan dari hewan ternak yang mengalami mikotoksikosis.

Kontaminasi mikotoksin pada bahan pangan sulit dihindari dan merupakan masalah global. Salah satu kendala dari hasil pertanian/perkebunan Indonesia adalah tingginya cemaran kapang toksigenik yang berbanding lurus dengan cemaran mikotoksin. Kapang toksigenik merupakan istilah yang digunakan untuk kapang yang memproduksi mitoksin sebagai metabolit sekundernya. Indonesia sebagai negara tropis memiliki iklim yang sangat mendukung pertumbuhan kapang toksigenik. Kontaminasi kapang toksigenik pada bahan pangan dapat terjadi saat *on farm* maupun *off farm*.

## 1. Perkembangan Mikotoksikosis

Mikotoksikosis, seperti semua sindrom toksikologi dapat dikategorikan akut dan kronis. Toksisitas akut secara umum memiliki onset cepat dan respon yang nyata, sedangkan toksisitas kronis dikarakterisasi sebagai paparan dosis rendah pada periode waktu yang panjang. Konsumsi cemaran mikotoksin secara terus menerus dapat, menyebabkan penurunan kesehatan, berupa penurunan daya tahan tubuh sehingga mudah terserang penyakit (immunosupresif), pertumbuhan yang lambat pada anak-anak, munculnya kanker, kerusakan liver, kerusakan ginjal dan efek lainnya sampai pada kematian. Hampir dipastikan pengaruh kesehatan manusia dan hewan akibat paparan mikotoksin adalah toksisitas kronis.

Perbedaan sifat-sifat kimia, biologi dan toksikologi tiap mikotoksin menyebabkan adanya perbedaan efek toksik yang ditimbulkannya. Selain itu, toksisitas mikotoksin juga ditentukan oleh: (1) dosis atau jumlah mikotoksin yang dikonsumsi; (2) rute pemaparan; (3) lamanya pemaparan; (4) spesies; (5) umur; (6) jenis kelamin; (7) status fisiologis, kesehatan dan gizi; dan (8) efek sinergis dari berbagai mikotoksin (*mycotoxin cocktails*) yang secara bersamaan terdapat pada bahan pangan.

Mikotoksikosis akut dapat menyebabkan penyakit serius dan kadang berakibat fatal karena dapat menyebabkan kematian. Hal ini menjadi pertimbangan ketika gejala akut terjadi pada beberapa orang dimana tidak ada bukti infeksi dari agen etiologi yang dikenal dan tidak ada perbaikan secara klinis setelah pengobatan. Sebagian besar dari KLB (*outbreaks*) adalah konsumsi pangan yang terkontaminasi mikotoksin dan negara – negara berkembang beresiko tinggi terhadap *outbreaks* ini.

Toksisitas akut terjadi akibat konsumsi mikotoksin dalam dosis tinggi, yang paling terkenal dari manifestasi efek akut mikotoksin adalah kasus *turkey X syndrome*, ergotisme dan *stachybotryotoxicosis*. *Turkey X syndrome* (sindrom kalkun X) terjadi tahun 1961 di Inggris yang menyebabkan 100.000 ternak kalkun mati, sindrom ini dikaitkan dengan pakan kacang tanah yang terkontaminasi metabolit sekunder *Aspergillus flavus* yaitu aflatoksin. Sejak itu aflatoksin dikenal sebagai racun yang sangat toksik, karsinogenik, mutagenik dan immunosupresif.

Toksisitas akut pada hati telah dilaporkan di India, Malaysia dan Kenya setelah mengkonsumsi aflatoksin. Pada tahun 1974 terjadi *outbreaks* hepatitis pada 400 orang di India dan 100 orang diantaranya meninggal. Dipastikan akibat mikotoksikosis aflatoksin yang terdapat pada jagung yang terkontaminasi *Aspergillus flavus* yaitu aflatoksin sebesar 15 ppm. Selain itu juga dilaporkan *outbreaks* dengan gejala gastrointestinal dan diare yang dikaitkan dengan asupan fumonisin dalam dosis tinggi di India. Gejala gastrointestinal termasuk muntah terlihat nyata pada manusia setelah asupan DON (Deoksinivalenol) dalam dosis tinggi di China. *Outbreaks* yang mirip juga dilaporkan di India, ketika penduduk desa – desa di India mengkonsumsi gandum yang rusak akibat hujan dan mengandung DON dan trichothecenes. Selain itu juga dilaporkan *outbreaks* di Ethiopia tahun 1978 akibat wabah ergotisme gangren.

Aflatoksikosis akut dapat diakibatkan oleh konsumsi aflatoksin dalam tingkat sedang hingga tinggi. Beberapa gejala umum aflatoksikosis adalah edema anggota tubuh bagian bawah, nyeri perut, dan muntah. Secara spesifik, paparan akut aflatoksin dapat menyebabkan perdarahan, kerusakan hati secara akut, edema, perubahan pada pencernaan, dan kemungkinan kematian. Tertelannya

aflatoksin dalam jumlah besar umumnya terjadi di peternakan. Organ target aflatoksin adalah hati, setelah aflatoksin masuk ke hati, lipid menyusup ke dalam hepatosit dan menyebabkan nekrosis atau kematian sel hati. Hal ini terutama disebabkan oleh metabolit aflatoksin yang bereaksi secara negatif dengan protein sel lain, yang menyebabkan penghambatan metabolisme karbohidrat dan lemak serta sintesis protein. Akibat penurunan fungsi hati, terjadi gangguan mekanisme pembekuan darah, ikterus (*jaundice*), dan penurunan protein serum esensial yang disintesis oleh hati.

Pada tahun 1999 di Puerto Rico berjangkit gejala pubertas yang terlalu cepat pada ribuan anak-anak, diduga disebabkan zearalenon. Zearalenon adalah mikotoksin estrogenik yang mampu memodulasi hormon endokrin (estrogen) dan menyebabkan *hyperestrogenik* disamping sifat genotoksik. Sementara itu di Indonesia ditemukan adanya kemandulan pada hewan ternak.

Sejak misteri ergotisme hingga ditemukannya kapang *Claviceps purpurea* sebagai penyebabnya, hingga saat ini setidaknya 300 jenis mikotoksin dan metabolitnya telah dipublikasikan. Codex Alimentarius Commission (CAC) tahun 2006 memfokuskan perhatian pada lima jenis mikotoksin yaitu aflatoksin, deoksinivalenol, fumonisin, okratoksin A dan patulin. Di Indonesia, Badan Standarisasi Nasional (BSN) telah menetapkan batas maksimum kandungan mikotoksin dalam pangan (SNI 7385: 2009).

## **2. Kapang Penyebab Mikotoksikosis**

Produksi mikotoksin tidak dapat dihindari dan kadang terjadi secara tidak terduga yang membuatnya menjadi tantangan unik dalam keamanan pangan. Perubahan iklim dapat mempengaruhi infeksi tanaman oleh kapang

toksigenik dan kemampuannya memproduksi mikotoksin. Iklim menentukan kontaminasi mikotoksin pada tanaman dan menjadi hal penting yang harus diketahui produsen tanaman (petani). Dalam beberapa kasus, musim kemarau panjang dapat menyebabkan kehilangan hasil panen akibat infeksi kapang toksigenik.

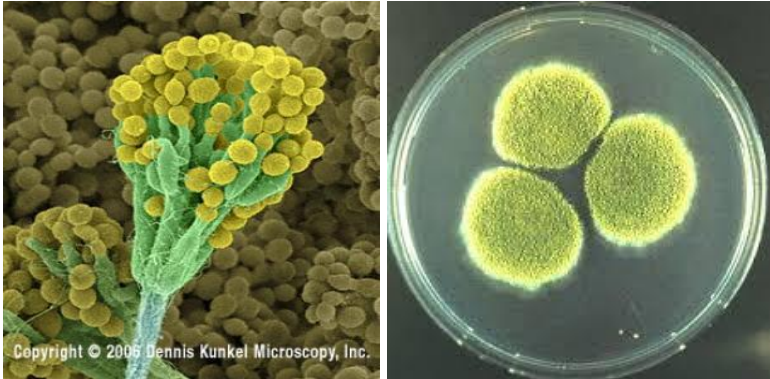
Mikotoksin telah dipelajari sebagai masalah yang timbul selama penyimpanan komoditas, namun sekarang jelas bahwa hampir semua masalah mikotoksin berasal saat tanaman diladang (*on farm*) sebagai akibat dari interaksi antara tanaman, kapang penghasil mikotoksin dan faktor bio-fisik. Kapang toksigenik yang tersebar luas dan mikotoksinnya banyak dipelajari adalah spesies dari genus *Aspergillus* (Gambar 31), *Penicillium* (Gambar 32) dan *Fusarium* (Gambar 33).



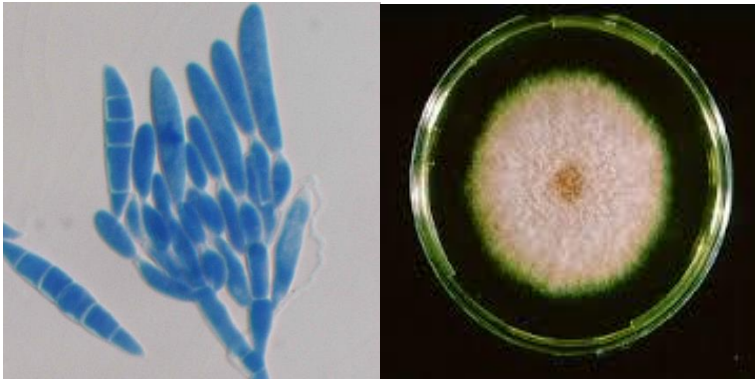
Gambar 31. *Aspergillus* sp. di bawah Mikroskop dan Cawan Petri

Pertumbuhan kapang toksigenik dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah suhu dan kelembaban lingkungan. Kedua faktor ini merupakan penyebab khusus tumbuhnya mikotoksin pada saat tanaman masih di ladang.

Perubahan suhu dan kelembaban lingkungan akan berakibat pada perubahan profil pertumbuhan kapang pada tanaman.



Gambar 32. *Penicillium* sp. di bawah Mikroskop dan Cawan Petri



Gambar 33. *Fusarium* sp. Di bawah Mikroskop dan Cawan Petri

Kondisi iklim merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap suhu dan kelembaban lingkungan, sehingga perubahan iklim akan mengakibatkan perubahan komposisi mikotoksin pada hasil panen. Selain akibat perubahan kondisi lingkungan, kerusakan tanaman akibat

gangguan serangga dapat mengakibatkan pertumbuhan kapang toksigenik pada tanaman saat masih di ladang (Paterson dan Lima, 2010). Faktor lain yang dipengaruhi iklim selain serangan serangga adalah gangguan hama lain (hewan pengerat), kondisi tanah dan status nutrisi, serta metodologi agroindustri yang secara tidak langsung potensial memicu kolonisasi kapang dan produksi toksin.

Secara umum pembusukan tidak mungkin terjadi jika biji – bijian disimpan pada  $Aw \leq 0,70$ . Faktor kunci lingkungan terhadap suhu, ketersediaan air dan komposisi gas mempengaruhi laju pertumbuhan kapang dan produksi mikotoksin. Situasi buruk dapat terjadi jika perubahan iklim memicu pertumbuhan spesies toksigenik dan meningkatkan produksi mikotoksinnya. Sebagai contoh spesies *Fusarium* diinkubasi dengan *A. niger* ternyata meningkatkan produksi fumonisin terutama pada  $Aw 0,98$ , meskipun dalam kondisi kering hal ini tidak terjadi pada jagung. Serangga dapat berperan sebagai vektor penting untuk prevalensi spesies toksigenik dan pembawa dalam penyebaran toksin ke biji – bijian.

### **3. Pangan Sebagai Media Tumbuh Fungi**

Mikotoksin banyak ditemukan mengkontaminasi pangan, terutama hasil pertanian dan perkebunan dan pakan (Tabel 15).

Kontaminasi mikotoksin pada berbagai komoditas dipengaruhi oleh beberapa faktor (Gambar 34). Faktor biologis seperti ketebalan tanaman dan kecocokan kapang toksigenik dengan inang; faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, kerusakan pada tanaman akibat serangan atau burung; serta kondisi saat pemanenan dan penyimpanan mempengaruhi keberadaan mikotoksin dalam rantai pangan.



Iklim merupakan faktor yang sangat penting dalam kontaminasi mikotoksin.

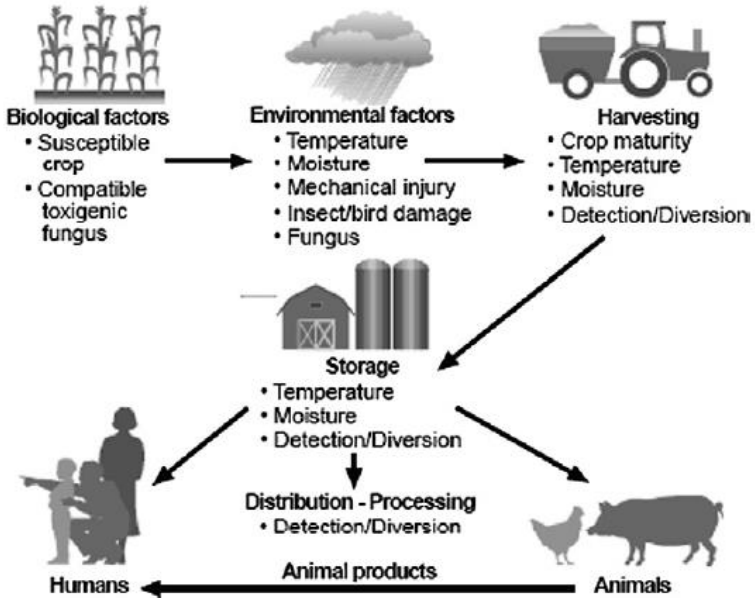
**Tabel 15. Komoditi yang Ditemukan Terkontaminasi Mikotoksin**

<b>Mikotoksin</b>	<b>Komoditi</b>
Aflatoksin	Kacang tanah, jagung, gandum, kapas, kopra, susu, telur, keju
Sitrinin	Gandum, barley, beras, jagung
Oktatoksin A	Gandum, barley, oat, jagung, kopi, anggur, buah kering, coklat, keju
Patulin	Pakan, apel busuk, jus apel
Zearalenon	Jagung, pelet pakan, sistem perairan

Penebangan hutan, penggunaan bahan bakar fosil, dan berbagai aktivitas manusia menyebabkan perubahan iklim global. Peningkatan konsentrasi metana, karbon dioksida, nitrous oksida, dan klorofluorokarbon di atmosfer menyebabkan pemanasan lingkungan, hujan, dan kekeringan. Pemanasan ini dapat mempengaruhi infeksi tanaman oleh kapang toksigenik, pertumbuhan kapang, dan produksi mikotoksin.

Perubahan suhu dan curah hujan diperkirakan dapat berpengaruh besar terhadap tanaman dan patogennya, termasuk konsentrasi mikotoksin pada tanaman. Perubahan ini dapat meningkatkan produksi suatu mikotoksin atau bahkan menyebabkan kapang penghasil toksin hilang dari lingkungan karena tidak mampu beradaptasi dengan peningkatan suhu yang terlalu tinggi. Perubahan iklim juga dapat mempengaruhi interaksi antara patogen dengan inangnya sehingga suatu patogen dapat ditransmisikan oleh vektor baru. Peningkatan iklim global dapat menyebabkan suhu pada malam hari menjadi lebih hangat. Hal ini penting bagi vektor serangga untuk terbang dan mencari makan di

malam hari. Keadaan ini dapat meningkatkan penyebaran kapang penghasil mikotoksin melalui vektor serangga.

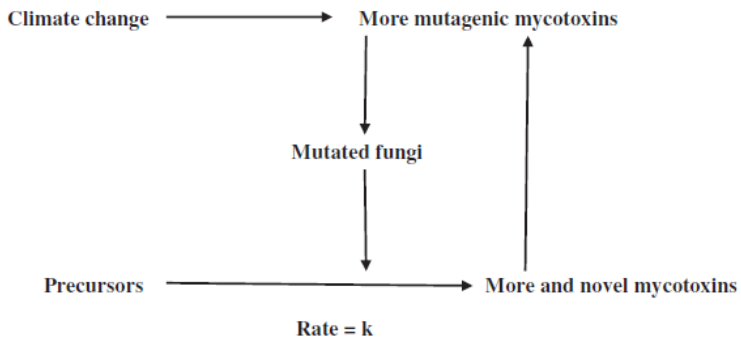


Gambar 34. Faktor yang Mempengaruhi Keberadaan Mikotoksin Dalam Rantai Pangan

Perubahan praktik bertani akan terjadi untuk mengatasi perubahan iklim yang ada. Keadaan tersebut juga akan mempengaruhi mikotoksin pada pangan. Selain itu, perubahan iklim akan mempengaruhi keberadaan populasi di suatu wilayah. Invasi spesies non-indigenous dapat membawa mikotoksin baru yang dapat menyerang tanaman.

Perubahan iklim memiliki kemungkinan menyebabkan peningkatan mutasi pada kapang dan menyebabkan munculnya penyakit akibat evolusi mikroba baru. Kebanyakan toksin adalah mutagenik dan dapat menjasi sumber mutasi di lingkungan. Perubahan iklim dapat

menghasilkan peningkatan jumlah dan jenis mikotoksin mutagenik pada tanaman hasil panen, yang dapat menyebabkan strain kapang mutan juga mampu memproduksi mikotoksin mutagenik dan seterusnya membentuk siklus (Gambar 35). Peningkatan radiasi UV akibat perubahan iklim, sehubungan dengan peningkatan suhu, juga dapat meningkatkan mutasi.



Gambar 35. Siklus Mikotoksin Akibat Perubahan Iklim

#### 4. Mikotoksin Penting Dalam Bahan Pangan

##### Aflatoksin

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang dihasilkan oleh kapang *Apergillus flavus* dan *A. parasiticus*. Kedua kapang tersebut dapat tumbuh optimum pada suhu 35°C dan pada  $a_w$  0.95. Produksi aflatoksin optimum terjadi pada suhu 33°C dan  $a_w$  0.99 pada media pertumbuhan (Sanchis & Magan 2004). Faktor utama yang berperan dalam konsentrasi aflatoksin yang tinggi adalah suhu tinggi dan tekanan kekeringan. Suhu tinggi dan kondisi kering menyokong pertumbuhan, konidiasi, penyebaran *A. flavus*. Selain itu, suhu tinggi mengganggu pertumbuhan dan perkembangan dari tanaman, seperti jagung.

Iklim secara langsung mempengaruhi kerentanan dari inang terhadap patogen. Sebagai contoh, kacang pistachio mengalami pemecahan kulit yang lebih cepat pada kondisi panas dan kekeringan; produksi fitoaleksin, senyawa antimikroba yang diproduksi oleh tanaman, pada kacang dapat menurun. Kondisi tersebut dapat meningkatkan kontaminasi aflatoksin.

Payne *et al.* (1988), di dalam Wu *et al.* (2011), melakukan studi pada lingkungan terkontrol, di mana biji jagung diinokulasi dengan konidium *A. flavus* dan diinkubasi pada suhu yang berbeda. Suhu penyimpanan yang lebih tinggi memberikan pertumbuhan *A. flavus* yang lebih tinggi. Sebanyak 28% biji jagung yang disimpan pada suhu siang/malam 30/34°C terinfeksi *A. flavus*, sedangkan pada suhu siang/malam 26/22°C, hanya 2.4% biji yang terinfeksi. Tanaman yang tumbuh pada iklim hangat memiliki kemungkinan lebih besar terinfeksi kapang penghasil aflatoksin. Di beberapa daerah, infeksi hanya terjadi ketika suhu meningkat sehubungan dengan kekeringan (Patterson & Lima 2010).

Kondisi pra-panen di mana suhu di bawah 20°C dapat menurunkan bahaya kontaminasi aflatoksin. Di sisi lain, pra-panen dengan kondisi suhu di atas 25°C dan masa kemarau dapat meningkatkan bahaya kontaminasi aflatoksin. Hujan pada saat kekeringan dapat menurunkan bahaya tersebut. Pemanenan yang terlambat dan hujan lebat dapat mempengaruhi kualitas hasil panen dan kontaminasi mikotoksin jika tidak dikeringkan dengan baik. Di sisi lain, kondisi gersang dan kekeringan yang membantu pengeringan hasil panen, saat atau dekat pemanenan, secara tidak langsung akan menyebabkan konsentrasi aflatoksin yang tidak dapat diterima pada hasil panen di daerah hangat (Paterson & Lima 2011).

## Deoxynivalenol (DON)

DON (vomitoksin) dikenal sebagai mikotoksin jenis trikotesena tipe B yang paling polar dan stabil yang diproduksi oleh kapang *Fusarium graminearum* dan *F. culmorum*. Kedua spesies ini umum terdapat di tanaman selama musim tanam/pra-panen) dan tumbuh optimum pada suhu 20 – 25°C dengan Aw 0,98 – 0,995 (Sanchis & Magan, 2004). DON sendiri merupakan suatu epoksi-sesquiterpenoid yang mempunyai satu gugus hidroksil primer, dua gugus hidroksil sekunder dan gugus karbonil berkonjugasi yang membedakannya dengan trikotesen tipe lain. Produksi DON optimum terjadi pada kondisi pra-panen 30°C (*F. graminearum*) dan 26°C (*F. culmorum*) dengan Aw 0,99 pada cuaca hangat dan kelembaban/curah hujan tinggi (Sanchis & Magan, 2004). Tetapi kondisi pra-panen cuaca dingin <10°C dan panas >32°C serta curah hujan yang cukup dapat menurunkan resiko kontaminasi DON (Paterson & Lima, 2010). Keberadaan DON dalam bahan pangan kadang disertai oleh mikotoksin lain yang juga dihasilkan oleh spesies *Fusarium* seperti zearalenon, nivalenol dan fumonisin. Efek kesehatan dari paparan DON mulai dari disfungsi gastrointestinal (seperti anoreksia, mual dan muntah) sampai imunotoksisitas dan hilangnya produktivitas (Bondy & Pestka, 2000 dalam Wu *et al*, 2011).

Studi terkait DON di Eropa tengah menunjukkan suhu hangat dan hujan selama pertumbuhan jagung kondusif untuk *F. graminearum*. Survei menunjukkan peningkatan populasi *F. graminearum* dibandingkan *F. culmorum*. Hal ini menunjukkan tingginya resiko mikotoksin DON jika perubahan iklim menyebabkan kenaikan suhu. Isebaert *et al* (2009) dalam (Paterson & Lima, 2010) menunjukkan bahwa *F. graminearum* predominan karena efek dari cuaca hangat

di musim tanam 2004 – 2005, sementara *F. culmorum* dominan di musim tanam 2001 – 2002 di mana terjadi suhu rendah pada bulan Juli, rata-rata 17,4°C. Level DON sangat tinggi telah diobservasi pada musim tanam gandum 2001-2002 di Belgia, 22% sampel mengandung lebih dari 0,7 mg/kg DON dan 11%-nya mengandung lebih dari 1 mg/kg DON. Kandungan DON menurun pada musim tanam berikutnya (Paterson & Lima, 2010). Jika pada pakan terdapat kandungan DON yang tinggi, maka dapat menyebabkan kehilangan ekonomi yang serius di peternakan (Wu *et al*, 2011).

## **Fumonisin**

Fumonisin merupakan salah satu mikotoksin yang dihasilkan oleh *Fusarium*. Studi epidemiologi menunjukkan konsumsi mikotoksin ini dapat meningkatkan resiko kanker esofageal di daerah Afrika, Asia, dan Amerika Selatan (Wu *et al*, 2010). Kapang ini dianggap sangat berhubungan dengan keberadaannya pada tanaman saat masih di ladang sebab salah satu tahap penting kapang ini secara alami berada di tanah. Salah satu kapang penghasil fumonisin adalah dari jenis *Liseola* yang dilaporkan mampu tumbuh pada lingkungan dengan suhu di atas 28<sup>0</sup>C dan memproduksi mikotoksin pada suhu mendekati 30<sup>0</sup>C. Pada tanaman jagung, fumonisin diproduksi oleh kapang *Fusarium verticilloides* dan *F. proliferatum* yang tumbuh optimum pada suhu 30°C dengan Aw 0,90. Produksi fumonisin optimum pada suhu 15 – 30°C dengan Aw >0,93 (Sanchis & Magan, 2004).

Keberadaan fumonisin pada tanaman dilaporkan berhubungan dengan stress akibat kekeringan, luka akibat serangga, perubahan suhu dan aktivitas air. Musim kering yang terjadi di bagian selatan dan timur Afrika

mengakibatkan jagung dengan penampakan yang bagus mengandung fumonisin dalam jumlah yang tinggi. Sedangkan pada bagian utara dengan suhu yang lebih rendah, kandungan fumonisin menunjukkan jumlah yang lebih signifikan. Suhu yang tinggi akan menyebabkan peningkatan laju evapo-transpirasi sehingga akan mengakibatkan terjadinya stress pada tanaman. Oleh karena itu, pada kondisi ini keberadaan fumonisin pada tanaman perlu diwaspadai (Tirado *et al*, 2010). Keberadaan *Fusarium* yang merupakan kapang penghasil fumonisin pada tanaman dapat dideteksi dengan munculnya gejala penyakit secara tiba-tiba dan munculnya keropeng pada kernel gandum. Hasil penelitian di Argentina dan Filipina menunjukkan peningkatan jumlah fumonisin pada jagung akibat perubahan iklim dan kerusakan akibat gangguan serangga (Paterson dan Lima, 2011).

### **Okratoksin**

Okratoksin merupakan salah satu mikotoksin yang dihasilkan oleh kelompok *Aspergillus* dan mengkontaminasi tanaman tertentu. Mikotoksin ini berhubungan dengan beberapa kelompok kopi, kacang dan anggur sehingga akan berimbas pada produksi *wine* sebagai produk dari anggur, bir, dan kopi (Tirado *et al*, 2010).

Menurut Paterson dan Lima (2011), suhu optimum pertumbuhan kapang penghasil okratoksin adalah 30<sup>0</sup>C dan suhu optimum pembentukan mikotoksin adalah sekitar 25-30<sup>0</sup>C. Perubahan iklim yang mengakibatkan peningkatan suhu hingga >30<sup>0</sup>C dianggap berbahaya karena dapat meningkatkan resiko pertumbuhan kapang penghasil okratoksin. Suhu di bawah 21<sup>0</sup>C dianggap lebih aman untuk mencegah pertumbuhan kapang ini. Penelitian yang dilakukan di pertanian anggur pada tahun 2001 dan 2003 menunjukkan peningkatan suhu yang kecil dapat

menyebabkan anggur berada pada titik kritis. Suhu 21<sup>o</sup>C dianggap menjadi batas terendah untuk mencegah pertumbuhan *Aspergillus* penghasil okratoksin. Pada kondisi tersebut kapang dianggap tidak mampu mengakibatkan perubahan yang membawa anggur mencapai titik kritis.

Hasil penelitian pada pertanian anggur di daerah Spanyol yang dilakukan pada tahun 2002 dan 2003 menunjukkan bahwa pada tahun terhangat yaitu tahun 2003 dan pada daerah terhangat, Costers del Segre jumlah kontaminasi paling tinggi. Penelitian lain menunjukkan delapan dari sebelas sampel telah terkontaminasi oleh Okratoksin dan juga oleh *A. carbonaris*. Sehingga dapat dikatakan bahwa kapang ini berhubungan dengan produksi okratoksin (Paterson dan Lima, 2010).

## 5. Pengendalian Mikotoksin

Fase kedua dari kontaminasi mikotoksin dapat terjadi setelah pemanenan sampai konsumsi. Hasil panen dapat terpapar suhu hangat, kondisi lembab di ladang, selama transportasi dan penyimpanan. Kelembaban yang tinggi merupakan kondisi kondusif terjadinya kontaminasi kapang toksigenik, apalagi jika dibarengi dengan tersedianya substrat dan suhu hangat. Hal yang umum bahwa komoditas mengandung kapang toksigenik saat dipanen dengan atau tanpa mikotoksin dengan tingkat signifikan. Sampai dengan saat panen, status tanaman akan memainkan peran utama dalam menentukan tingkat kontaminasi mikotoksin sementara kondisi biji-bijian yang akan disimpan adalah faktor utama dalam stabilitas selama penyimpanan.

Perubahan iklim dapat mengubah sifat atau derajat variasi kondisi pada periode panen/pasca-panen sehingga stabilitas dari tanaman antara panen dan pemasaran akan terpengaruh. Hal ini dapat diantisipasi dengan penyesuaian



teknik penanganan pasca-panen. Kunci penting untuk menjamin keamanan pangan adalah penerapan sistem keamanan pangan, *Good Practices* dan *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP). *Good Agricultural Practices* (GAP) dan *Good Manufacturing Practices* (GMP) dan *Good Practices* lainnya dapat diimplementasikan untuk mengontrol mikotoksin. Langkah pencegahan dan perbaikan adalah GAP, pemeliharaan tanaman, dan detoksifikasi. Rencana HACCP perlu diterapkan untuk mengontrol mikotoksin. Tanaman dapat ditanam saat musim yang lebih dingin untuk mencegah tekanan akibat panas. Pelatihan dan pengembangan kapasitas sehubungan dengan mikotoksin perlu ditingkatkan, terutama untuk negara-negara berkembang.

Pada daerah di mana lebih banyak tanaman yang tumbuh akibat perubahan iklim perlu diterapkan analisis mikotoksin pada tingkat yang cukup tinggi dan pada daerah di mana pertumbuhan tanaman lebih sedikit, analisis pada tingkat yang cukup tetap dilakukan. Perubahan pola penanaman, teknologi manajemen aflatoksin, dan detoksifikasi dapat dikembangkan. Kebijakan yang mendasari kerangka dalam pendekatan mengenai masalah ini juga harus dikembangkan.

Pada berbagai produk fermentasi tradisional perlu dilakukan pengendalian mikotoksin dengan langkah-langkah berikut: Pertama, menggunakan isolat kapang yang telah dipastikan tidak menghasilkan toksin; Kedua, menggunakan bahan dasar yang bebas (rendah) cemaran mikotoksinnya, dan Ketiga, menjaga proses fermentasi berlangsung dengan baik, menerapkan GMP, HACCP, *good fermentation practices* untuk mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme yang berbahaya selama fermentasi.

## 6. Batas Cemaran Mikotoksin Dalam Bahan Pangan

Salah satu kendala dari hasil pertanian/perkebunan Indonesia adalah tingginya cemaran kapang toksigenik yang berbanding lurus dengan cemaran mikotoksin. Produk hasil perkebunan yang dilaporkan sering terkontaminasi mikotoksin adalah kopi dan kakao. Sebagai komoditas ekspor, keduanya dilaporkan pernah ditolak (*reject*) oleh negara tujuan dengan alasan kandungan mikotoksin yang terdapat di komoditas tersebut tidak memenuhi standar negara tersebut. Sebagai langkah untuk melindungi produk hasil pertanian/perkebunan yang akan diekspor, petani dan konsumen maka telah terbitkan SNI 7385:2009 tentang Batas Maksimum Kandungan Mikotoksin dalam Pangan. Pada SNI ini memuat konsentrasi maksimum mikotoksin yang diizinkan terdapat dalam pangan dan dinyatakan dalam satuan *part per billion* (ppb) atau mikrogram per kilogram ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sebagaimana tersaji pada Tabel 16 – 20.

**Tabel 16. Batas Maksimum Kandungan Deoksinivalenol Dalam Pangan**

No	Pangan	Batas maksimum (ppb atau $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	Gandum	1750
2	Jagung	1750
3	Produk olahan jagung sebagai bahan baku	1000
4	Produk olahan gandum sebagai bahan baku	1000
5	Produk olahan terigu siap konsumsi (pastri, roti, biskuit, makanan ringan)	500
6	Pasta dan mi serta produk sejenisnya	750
7	MP-ASI berbasis terigu	200

Sumber: BSN, 2009

**Tabel 17. Batas Maksimum Kandungan Aflatoksin Dalam Pangan**

No	Pangan	Jenis	Batas maksimum (ppb atau $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	Susu dan minuman berbasis susu	$M_1$	0,5
2	Susu fermentasi dan produk susu hasil hidrolisa enzim renin (plain)	$M_1$	0,5
3	Susu kental dan analognya	$M_1$	0,5
4	Krim (plain) dan sejenisnya	$M_1$	0,5
5	Susu bubuk dan krim bubuk dan bubuk analog (plain)	$M_1$	5
6	Keju dan keju analog	$M_1$	0,5
7	Makanan pencuci mulut berbeban dasar susu (misalnya puding, yogurt berperisa atau yogurt dengan buah)	$M_1$	0,5
8	Whey dan produk whey, kecuali keju whey	$M_1$	0,5
9	Kacang tanah dan produk olahan	$B_1$	15
		Total	20
10	Jagung dan produk olahan	$B_1$	15
		Total	20
11	Rempah – rempah bubuk	$B_1$	15
		Total	20

Sumber: BSN, 2009

**Tabel 18. Batas Maksimum Kandungan Fumonisin B1+B2 Dalam Pangan**

No	Pangan	Batas maksimum (ppb atau $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	Jagung	2000
2	Produk olahan jagung sebagai bahan baku	2000
3	Produk olahan jagung siap konsumsi	1000

Sumber: BSN, 2009

**Tabel 19. Batas Maksimum Kandungan Okratoksin A Dalam Pangan**

No	Pangan	Batas maksimum (ppb atau µg/kg)
1	Serealia (padi, jagung, sorgum, gandum)	5
2	Produk olahan serealia sebagai bahan baku	5
3	Produk olahan serealia siap konsumsi	3
4	MP-ASI berbasis serealia	0,5
5	Buah anggur kering termasuk kismis	10
6	Sari buah anggur	2
7	Kopi sangrai termasuk kopi bubuk	5
8	Kopi instan	10
9	Bir	0,2

Sumber: BSN, 2009

**Tabel 20. Batas Maksimum Kandungan Patulin Dalam Pangan**

No	Pangan	Batas maksimum (ppb atau µg/kg)
1	Buah apel segar	50
2	Buah apel dalam kaleng	50
3	<i>Puree</i> apel	25
4	Sari buah apel	50
5	Nektar apel	50
6	<i>Puree</i> apel untuk bayi dan anak	10
7	Minuman beralkohol berbasis apel	50

Sumber: BSN, 2009

## Rangkuman

Mikotoksin merupakan senyawa organik beracun yang berasal dari hasil metabolisme sekunder kapang. Lebih dari 150 spesies kapang dilaporkan memproduksi mikotoksin dan setiap spesies umumnya dapat menghasilkan lebih dari satu jenis mikotoksin. Dalam mikologi dikenal pula istilah mikosis dan mikotoksikosis, keduanya adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan penyakit yang ditimbulkan

oleh kapang. Mikosis merupakan infeksi yang disebabkan oleh kapang, terjadi tidak melalui bahan pangan melainkan melalui kulit atau lapisan epidermis, rambut dan kuku akibat sentuhan, pakaian atau terbawa angin. Mikotoksikosis merupakan penyakit yang disebabkan tertelannya metabolik beracun (mikotoksin) bersama bahan pangan yang dikonsumsi. Toksisitas akut secara umum memiliki onset cepat dan respon yang nyata, sedangkan toksisitas kronis dikarakterisasi sebagai paparan dosis rendah pada periode waktu yang panjang. Toksisitas akut terjadi akibat konsumsi mikotoksin dalam dosis tinggi. Toksisitas akut pada hati telah dilaporkan di India, Malaysia dan Kenya setelah mengkonsumsi aflatoksin. Pada tahun 1974 terjadi *outbreaks* hepatitis pada 400 orang di India dan 100 orang diantaranya meninggal. Dipastikan akibat mikotoksikosis aflatoksin dari jagung yang terkontaminasi *Aspergillus flavus* sebesar 15 ppm. Aflatoksikosis akut dapat diakibatkan oleh konsumsi aflatoksin dalam tingkat sedang hingga tinggi. Beberapa gejala umum aflatoksikosis adalah edema anggota tubuh bagian bawah, nyeri perut, dan muntah.

Perubahan iklim dapat mempengaruhi infeksi tanaman oleh kapang toksigenik dan kemampuannya memproduksi mikotoksin. Dalam beberapa kasus, musim kemarau panjang dapat menyebabkan kehilangan hasil panen akibat infeksi kapang toksigenik. Kapang toksigenik yang tersebar luas dan mikotoksinnya banyak dipelajari adalah spesies dari genus *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium*. Pertumbuhan kapang toksigenik dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah suhu dan kelembaban lingkungan. Selain akibat perubahan kondisi lingkungan, kerusakan tanaman akibat gangguan serangga dan hama lain (hewan pengerat), kondisi tanah dan status nutrisi, serta metodologi

agroindustri yang secara tidak langsung potensial memicu kolonisasi kapang dan produksi toksin.

Mikotoksin penting dalam bahan pangan adalah aflatoksin, deoxynivalenol (DON), fumonisin dan okratoksin. Aflatoksin merupakan mikotoksin yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus*. Kedua kapang tersebut dapat tumbuh optimum pada suhu 35°C dan pada  $a_w$  0.95. Produksi aflatoksin optimum terjadi pada suhu 33°C dan  $a_w$  0.99 pada media pertumbuhan. Deoxynivalenol (DON) atau vomitoksin dikenal sebagai mikotoksin jenis trikotesena tipe B yang paling polar dan stabil yang diproduksi oleh kapang *Fusarium graminearum* dan *F. culmorum*. Kedua spesies ini umum terdapat di tanaman selama musim tanam/pra-panen) dan tumbuh optimum pada suhu 20 – 25°C dengan  $a_w$  0,98 – 0,995. Produksi DON optimum terjadi pada kondisi pra-panen 30°C (*F. graminearum*) dan 26°C (*F. culmorum*) dengan  $a_w$  0,99 pada cuaca hangat dan kelembaban/curah hujan tinggi. Keberadaan DON dalam bahan pangan kadang disertai oleh mikotoksin lain yang juga dihasilkan oleh spesies *Fusarium* seperti zearalenon, nivalenol dan fumonisin. Studi epidemiologi menunjukkan konsumsi fumonisin dapat meningkatkan resiko kanker esofageal di daerah Afrika, Asia, dan Amerika Selatan. Pada tanaman jagung, fumonisin diproduksi oleh kapang *F. verticilloides* dan *F. proliferatum* yang tumbuh optimum pada suhu 30°C dengan  $a_w$  0,90. Produksi fumonisin optimum pada suhu 15 – 30°C dengan  $a_w$  >0,93. Okratoksin merupakan salah satu mikotoksin yang dihasilkan oleh kelompok *Aspergillus* dan mengkontaminasi tanaman tertentu. Mikotoksin ini berhubungan dengan beberapa kelompok kopi, kacang dan anggur sehingga akan berimbas pada produksi *wine* sebagai produk dari anggur,

bir, dan kopi. Suhu optimum pertumbuhan *Aspergillus* sin  $30^{\circ}\text{C}$  dan suhu optimum pembentukannya sekitar  $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ .

Hasil panen dapat terpapar suhu hangat dan kondisi lembab di ladang, selama transportasi dan penyimpanan. Kelembaban yang tinggi merupakan kondisi kondusif terjadinya kontaminasi kapang toksigenik, apalagi jika dibarengi dengan tersedianya substrat dan suhu hangat. Kunci penting untuk menjamin keamanan pangan adalah penerapan sistem keamanan pangan, yaitu HACCP. Dalam mengontrol mikotoksin dapat dilakukan dengan implementasi GAP, GMP, dan *Good Practices* lainnya.

Pada berbagai produk fermentasi tradisional perlu dilakukan pengendalian mikotoksin dengan menggunakan isolat kapang yang telah dipastikan tidak menghasilkan toksin; menggunakan bahan dasar yang bebas (rendah) cemaran mikotoksin, dan menjaga proses fermentasi berlangsung dengan baik, menerapkan GMP, HACCP, *good fermentation practices* untuk mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme yang berbahaya selama fermentasi.

## Latihan Soal

Jawablah pertanyaan-pertanyaan di bawah ini dengan singkat dan jelas!

1. Jelaskan perbedaan mikosis dan mikotoksikosis!
2. Jelaskan perbedaan toksisitas akut dan toksisitas kronis!
3. Jelaskan ciri beberapa kapang toksigenik (penghasil mikotoksin)!
4. Sebutkan dan jelaskan mikotoksin penting dalam bahan pangan!
5. Jelaskan langkah pengendalian mikotoksin pada berbagai produk fermentasi tradisional!

## DAFTAR PUSTAKA

- [ASM] American Society For Microbiology. 2013. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. ASMMicrobeLibrary.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. InfoPOM 9 (2): 1-9.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2008. *SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemaran Mikroba Dalam Dagig, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya*.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2009. *SNI 7385:2009 tentang Batas Maksimum Kandungan Mikotoksin Dalam Pangan*.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2009. *SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan*.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2012. *SNI 2551:2012 tentang Mi Instan*.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. *FAO Technical Meeting on Prebiotics: Food Quality and Standards Service (AGNS)*.
- Anonim. 2002. *Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/95s0316/95s-0316-rpt0282-tab-03-ref-19-joint-faowhol219.pdf>. London, Canada.
- Agustina, R., Bovee-Oudenhoven, I.M.J., Lukito, W., Fahmida, U., van de Rest, O., Zimmermann, M.B., Firmansyah, A., Wulanti, R., Albers, R., van den Heuvel, E.G.H.M. dan Kok, F.J. 2013. Probiotics Lactobacillus reuteri DSM 17938 and Lactobacillus



- casei CRL 431 Modestly Increase Growth, but Not Iron and Zinc Status, among Indonesian Children Aged 1–6 Years. *The Journal of Nutrition*, 143: 1184–1193. doi:10.3945/jn.112.166397
- Arai, S. 2002. Global view on functional foods: Asian perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88: Suppl. 2, S139–S143. DOI: 10.1079/BJN2002678
- Balouiri, M., Moulay, S. dan Saad, K.I. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6: 71-79.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564 – 582.
- Dethlefsen, L., Eckburg, P.B., Bik, E.M. dan Relman, D.A. 2006. Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol. Evol*, 21: 517-523.
- Dewanti-Hariyadi dan Ratih. 2013. HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) Pendekatan Sistematis Pengendalian Keamanan Pangan. Jakarta: Dian Rakyat.
- Dewanti-Hariyadi dan Ratih. 2015. *Updates on Foodborne Pathogens and Indicator Microorganisms*. Foodreview Indonesia. Vol X. No. 2. Februari 2015. Bogor: Media Pangan Indonesia.
- Djati, M.S. dan Christin, Y.I. 2019. Traditional Indonesian rempah-rempah as a modern functional food and herbal medicine. *Functional Foods in Health and Disease*, 9(4): 241-264.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L. dan Sargent, M. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308: 1635–1638.
- Gibson, G.R. dan Roberfroid, M.B. 1995. Dietary Modulation Of The Human Colonic Microbiota:

- Introducing The Concept Of Prebiotics. *J Nutr*, 125:1401–1412.
- Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. dan Roberfroid, M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr. Res. Rev*, 17: 259–275.
- Gibson, G.R. dkk. 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci. Tech. Bull. Funct. Food*, 7: 1–19.
- Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D., Verbeke, K. dan Reid, G. 2017. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews | Gastroenterology & Hepatology*, 14: 491-502.
- Hamayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M.R., Yarmand, M.S. dan Razavi, S.H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry* 111: 50-55.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia*. Penerjemah: Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. Edisi Kedua. Penerbit ITB:Bandung.
- Hariyadi, P. dan Ratih D.H. 2011. *Memproduksi Pangan yang Aman*. Dian Rakyat:Jakarta.
- Huebner, J., Wehling, R.L. dan Hutkins, R.W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17: 770–775. doi:10.1016/j.idairyj.2006.10.006.
- Imelda, F., Purwandani, L. dan Saniah. 2020. Total Bakteri Asam Laktat, Total Asam Titrasi dan Tingkat

- Kesukaan pada Yoghurt Drink dengan Ubi Jalar Ungu sebagai Sumber Prebiotik. *Jurnal Vokasi*, XV(1): 1-7.
- Jay, James M., dkk. 2005. *Modern Food Microbiology 7<sup>th</sup> Edition*. Springer:New York.
- Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, HS. dan Das, G. 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 1-13.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>  
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Kimoto, H., Nomura, M., Kobayashi, M., Mizumachi, K. dan Okamoto, T. 2003. Survival of lactococci during passage through mouse digestive tract. *Canada Journal Microbiology*, 49: 707-711.
- Kusmawati, E. 2008. Kajian Formulasi Sari Mentimun (*Curcumis sativus L.*) sebagai Minuman Probiotik Menggunakan Campuran Kultur *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus subsp. salivarius*, dan *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Fakultas Teknologi Pertanian.
- Lo´pez-Varela, S., Gonza´lez-Gross, M. dan Marcos, A. 2002. Functional foods and the immune system: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, Suppl 3, S29–S33.
- Lourens-Hattingh, A. dan Viljoen, B.C. 2001. Yogurt as probiotic carrier food: Review. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.
- Lozupone, C.A., Stombaugh, J.I., Gordon, J.I., Jansson, J.K. dan Knight, R. 2012. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Review: Nature*, 489: 220-230.

- Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora*, 1(1): 3-42.
- Mustangin, A., Rahayu, E.S. dan Juffrie, M. 2018. Pengaruh Konsumsi Probiotik Indigenous Powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 pada Anak-anak Malnutrisi Di Sekolah Dasar Belanting, Lombok Timur terhadap Indeks Massa Tubuh dan Populasi *Prevotella*, *Bacteroides fragilis* dan *Clostridium coccoides*. Tesis Magister Ilmu Dan Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Mustangin, A. dan Purwandani, L. 2019. Potensi Tepung Nipah (*Nypa fruticans* (Thunb.) Wurmb dari Sumber Daya Lokal sebagai Prebiotik pada *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*. *Prosiding Seminar Nasional "Teknologi Pangan & Gizi "Peningkatan Sumber Daya Lokal Untuk Akselerasi Ketahanan Pangan Dan Gizi"*, hal 84-96.
- Nuraida, L. 2011. *Pengembangan Pangan Fungsional Berbasis Bakteri Asam Laktat*. Materi Kuliah Bakteri Asam Laktat Mayor Ilmu Pangan semester 3. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nurhaida, L. 2011. *Penerapan Teknologi Hurdle dalam Pengawetan Pangan*. Foodreview Indonesia, Edisi Februari 2011. Bogor: Media Pangan Indonesia.
- Ohland, C.L. dan Wallace, K.M. 2010. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 298: G807–G819.
- Paterson, R.R.M. dan Lima, N. 2010. How will climate change mycotoxins in food?. *Food Res Int* 43: 1902-1914.

- Paterson, R.R.M. dan Lima, N. 2011. Further mycotoxin effects from climate change. *Food Res Int* 44: 2555-2566.
- Payne, G.A. 1999. Ear and kernel rots. Di dalam: White DG, editor. *Compendium of Corn Diseases*. St Paul :The American Phytopathology Society Press. hlm 44-47.
- Pineiro, M. dkk. 2008. FAO technical meeting on prebiotics. *J. Clin. Gastroenterol*, 42: S156–S159.
- Purwandani, L. dan Harmayani, E. 2011. Karakteristik Sifat Fisik, Kimia, Dan Fisiko-Kimia Tepung Serat Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) Serta Potensinya Sebagai Prebiotik. Tesis Magister Ilmu Dan Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Purwandani, L., Imelda, F. dan Darus, L. 2018. Aktivitas Prebiotik Polisakarida Larut Air Biji Durian In Vitro Pada *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* Dan *Bifidobacterium longum*. *FoodTech Jurnal Teknologi Pangan*, 1(1): 14-24.
- Rahayu, E.S. dan Utami, T. 2015. Informasi Terkini Seputar Mikotoksin. *Foodreview Indonesia*. Vol X. No. 2. Februari 2015. Bogor: Media Pangan Indonesia.
- Reddy, B.S. 1998. Prevention Of Colon Cancer By Pre- And Probiotics “: Evidence From Laboratory Studies. *Br J Nutr* 80(4):S219-23.
- Roberfroid, M.B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. *Am. J. Clin. Nutr*, 71: S1682 – S1687.
- Sanchis, V. dan Magan, N. 2004. Environmental conditions affecting mycotoxins. Di dalam: Magan N, Olsen M, editor. *Mycotoxins in Food: Detection and Control*. Woodhead Food Series No. 103. Cambrige: Woodhead Publishing Ltd. Hlm 174-189.

- Saran, *dkk.* 2002. Use of fermented foods to combat stunting and failure to thrive. *Nutrition*, 0(6):577–8.
- Soeharsono. 1997. Probiotik: Alternatif Pengganti Antibiotik. Buletin PDSKI No. 9 Th X.
- Surono, I.S., Koestomo, F.P., Novitasari, N., Zakaria, F.R. dan Yulianasari, K. 2011. Novel probiotic *Enterococcus faecium* IS-27526 supplementation increased total salivary sIgA level and bodyweight of pre-school children: A pilot study. *Anaerobe*, 17(6):496–500.
- Swanson, K.S. *dkk.* 2020. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews | Gastroenterology & Hepatology*, 17: 687-701.
- Tobing, B. 2015. Rantai Pasok Pangan (*Food Supply Chain*). <https://supplychainindonesia.com/new/rantai-pasok-pangan-food-supply-chain/>. Diakses tanggal 20 Februari 2017.
- Trachoo, N. dan Boudreaux, C. 2006. Therapeutic properties of probiotic bacteria. *Journal of Biological Science*, 6 (1): 202-208.
- Tripathi, M.K. dan Giri, S.K. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* (9): 225-241.
- Wang, Y. 2009. Review: Present and Future in Food Science and Technology. *Food Research International*, 42: 8-12.
- Watanabe, M., Yoshizawa, T., Miyakawa, J., Ikezawa, Z., Abe, K., Yanagisawa, T. dan Arai, S. 1990. Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins. *Journal of Food Science*, 55: 781–783.

- Wax, G.R., Lewis, K., Salyer, A.A. dan Taber, H. 2008. *Bacterial Resistance to Antimicrobials. Second Edition.* CRC Press. New York.
- Wu, E., Bhatnagar, D., Bui-Klimke, T., Carbone, I., Hellmich, R., Munkvold, G., Paul, P., Payne, G., dan Takle, E. 2011. Climate change impacts on mycotoxin risks in US maize. *World Mycotoxin Journal* 4(1): 79-93.
- Ziemer, C.J. dan Gibson, G.R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. Elsevier Science Ltd. Int. *Dairy Journal*, 8: 473-479.
- Zhang, M.M., Cheng, J.Q., Lu, Y.R., Yi, Z.H., Yang, P. dan Wu, X.T. 2010. Use of pre-, pro-and synbiotics in patients with acute pancreatitis: a metaanalysis. *World J Gastroenterol: WJG*, 16(31):3970. doi:10.3748/wjg.v16.i31.3970