

PERUBAHAN MIKROBIOLOGIS SELAMA FERMENTASI *BEBONTOT*
(MICROBIOLOGICAL CHANGES DURING THE FERMENTATION OF *BEBONTOT*)

MARTINI HARTAWAN

Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan mikrobiologis yang terjadi selama proses fermentasi *bebontot* (sosis tradisional Bali terfermentasi). *Bebontot* dibuat sesuai dengan formulasi dan kondisi fermentasi alamiah di daerah asalnya yaitu : Tabanan, Karangasem, Bangli, dan Badung. *Bebontot* juga dibuat dengan menggunakan formulasi Badung dengan *Lactobacillus plantarum* sebagai kultur starter. Penelitian diulang dua kali. Pengambilan sampel dilakukan pada interval waktu 24 jam selama 96 jam fermentasi untuk keperluan analisis mikrobiologis. Penghitungan total mikroba dilakukan dengan metode hitungan cawan dengan sistem tuang, sedangkan total bakteri asam laktat (BAL) dan total *Escherichia coli* ditentukan dengan metode hitungan cawan dengan sistem permukaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama 96 jam fermentasi dari semua formulasi *bebontot*, terjadi peningkatan total mikroba dan total BAL berturut-turut dari $10^4 - 10^6$ koloni/gram menjadi $10^7 - 10^9$ koloni/gram dan dari $10^3 - 10^4$ koloni/gram menjadi $10^8 - 10^9$ koloni/gram, sedangkan total *E. coli* menurun dari $10^2 - 10^3$ koloni/gram menjadi 10^1 koloni/gram.

Kata kunci : *bebontot*, fermentasi, perubahan mikrobiologis

ABSTRACT

The aim of this research is to find out the microbiological changes that occurred during the fermentation process of *bebontot* (Balinese traditional fermented sausage). *Bebontot* were produced according to the formulations and conditions of natural fermentation of the products in their places of origin which include Tabanan, Karangasem, Bangli and Badung. *Bebontot* were also made using the Badung formulation with *L. plantarum* as the starter culture. The research was repeated twice. The sample was taken within 24 hours time interval during 96 hours of fermentation for microbiological analysis. Total microbial count was carried out by the plate count method with pour system, whereas total Lactic Acid Bacteria (LAB) and total *Escherichia coli* were detected by plate count method with surface spread system. Results have shown that during 96 hours of fermentation for all formulations of *bebontot*, total microbial count and total LAB increased from $10^4 - 10^6$ CFU/g to $10^7 - 10^9$ CFU/g and from $10^3 - 10^4$ CFU/g to $10^8 - 10^9$ CFU/g, respectively, whereas *E. coli* decreased from $10^2 - 10^3$ CFU/g to 10^1 CFU/g.

Key words: *bebontot*, fermentation, microbiological changes

PENDAHULUAN

Bebontot merupakan salah satu jenis sosis tradisional Bali terfermentasi yang telah dikenal sejak lama. *Bebontot* dibuat dengan jalan mencampur daging, lemak, garam dan ditambah rempah-rempah serta dibungkus dengan *upih*, kemudian dijemur di bawah sinar matahari. Pada malam hari, *bebontot* tersebut digantung pada para-para dapur. Proses ini diakhiri apabila sudah muncul aroma spesifik *bebontot*.

Bakteri asam laktat (BAL) yang ada secara alamiah dalam bahan-bahan sosis memegang peran penting dalam produksi sosis terfermentasi, karena aktivitas BAL akan menghasilkan asam laktat melalui metabolisme karbohidrat. Dihasilkannya asam laktat menyebabkan pH daging turun dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen dan pembusuk. Di samping menghasilkan

asam laktat, beberapa jenis BAL mampu menghasilkan bakteriosin, sehingga produk daging menjadi lebih awet dan aman untuk dikonsumsi (Bacus, 1984; Lucke, 1985; Ray, 1996).

Pada pembuatan *bebontot* secara tradisional tidak ditambahkan BAL sebagai kultur starter, sehingga produk yang dihasilkan sering mengalami pembusukan terutama pada musim hujan. Mutu produk yang dihasilkan oleh masyarakat sangat bervariasi dan masa simpannya relatif singkat.

Penelitian tentang isolasi dan identifikasi BAL serta perubahan mikrobiologis dan biokimiawi selama proses fermentasi pada sosis terfermentasi tradisional Bali (*urutan*) telah dilakukan oleh Aryanta (1992). Namun, penelitian serupa belum dilakukan pada *bebontot*.

Dalam rangka mengembangkan dan meningkatkan mutu *bebontot* sebagai salah satu produk sosis tradisional Bali terfermentasi, maka informasi ilmiah tentang perubahan mikrobiologis yang terjadi selama proses fermentasi sangat penting untuk diketahui.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan penelitian tentang perubahan mikrobiologis yang terjadi selama fermentasi pada *bebontot*.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan *bebontot* adalah daging dan lemak babi yang diperoleh dari Pasar Badung, Pasar Sanglah, dan Pasar Bangli. Bahan baku bukan daging adalah garam, gula, rempah-rempah, *L. plantarum* 0027 (diperoleh dari Lab. Mikrobiologi Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta) dan bahan

pembungkus *upih* diperoleh dari desa Ubud, Gianyar.

Bahan kimia dan alat yang digunakan dalam penelitian adalah Alkohol 70%, Aquades, PCA (Plate Count Agar) / Difco 0479-17, MRSA (de Man Rogosa Sharpe Broth) / Oxoid CM-359, Bacteriological peptone 0.1% / Difco 0885-17-1, EMBA (Eosin Methylene Blue Agar) / Difco 27-6400-0076-17, autoclave (Labec 25-X), Incubator (Qualtex 1207-04), dan timbangan analitik (Sartorius 13502476).

Metode Penelitian

Bebontot mentah dibuat dengan formulasi sesuai dengan Tabel 3. Proses pembuatan *bebontot* dari kelima formulasi adalah sama, yaitu daging dan lemak babi dipotong-potong menyerupai kubus, kemudian dicampur bumbu (yang telah digiling halus). Adonan yang telah dicampur dibungkus dengan *upih*, diikat dengan

tali, selanjutnya digantung pada suatu tempat dan dijemur di bawah sinar matahari (proses fermentasi berlangsung selama 96 jam). Suhu fermentasi setiap formulasi berbeda sesuai asal formulasi. *Bebontot* dengan serta formulasi A difermentasi pada kisaran suhu 30° – 43°C, formulasi B pada kisaran suhu 22° – 25°C, formulasi C pada kisaran suhu 20° – 22°C, formulasi D dan E pada kisaran suhu 30° – 45°C. Proses pembuatan *bebontot* diulang dua kali. Pada interval waktu 24 jam selama fermentasi, sampel diambil untuk dianalisis secara mikrobiologis.

Analisis Mikrobiologis

Penentuan total mikroba (*Aerobic Plate Count*) dilakukan dengan metode hitungan cawan dengan sistem tuang (Fardiaz, 1992). *Bebontot* dihancurkan dengan wadah steril, kemudian ditimbang 10 g dan dimasukkan ke dalam botol pengencer

yang telah berisi 90 ml larutan Bacteriological pepton 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹, itu kemudian dikocok hingga homogen. Sebanyak 1 ml dari pengenceran 10⁻¹ dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan Bacteriological pepton 0,1% steril dengan menggunakan pipet sehingga diperoleh pengenceran 10⁻². Demikian seterusnya untuk mendapatkan pengenceran yang lebih besar.

Penanaman dalam agar menggunakan metode tuang. Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 1 ml dipipet ke dalam cawan Petri. Selanjutnya, ke dalam cawan Petri tersebut dimasukkan media PCA cair steril yang telah didinginkan sampai ± 50° C sebanyak 15 ml. Segera setelah penuangan, cawan Petri digerakkan di atas meja dengan gerakan melingkar seperti angka delapan. Setelah memadat, agar diinkubasi ke dalam inkubator pada

suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Setelah tercapai waktu inkubasi yang ditetapkan, mikroba yang tumbuh diamati dan dihitung.

Total Bakteri Asam Laktat

Total BAL ditentukan dengan metode hitungan cawan dengan sistem permukaan (Fardiaz, 1992). Sebanyak 10 g sampel dihancurkan dalam wadah steril dan dimasukkan ke dalam botol pengencer yang telah berisi 90 ml larutan Bacteriological pepton 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, dilakukan kocokkan hingga homogen campuran kemudian dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml Bacteriological pepton 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Demikian seterusnya untuk mendapatkan pengenceran yang lebih besar. Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 0,1 ml dipipet ke dalam cawan Petri yang telah berisi media MRSA yang sudah memadat,

kemudian disebar ke seluruh permukaan media (*surface spread method*) dengan batang gelas bengkok. Cawan Petri yang sudah ditanami selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator dengan cara terbalik dan diinkubasi pada suhu 30° C selama 24 jam. Koloni-koloni yang tumbuh pada agar cawan Petri kemudian dihitung.

Total *E. coli*

Total *E. coli* ditentukan dengan metode hitungan cawan dengan sistem permukaan (Fardiaz, 1992). Sebanyak 10 g sampel dihancurkan dalam wadah steril dan dimasukkan ke dalam botol pengencer yang telah berisi 90 ml larutan Bacteriological pepton 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Campuran itu kemudian dikocok hingga homogen, selanjutnya dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml Bacteriological pepton 0,1%, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} .

Demikian seterusnya untuk mikroba dari masing-masing formulasi mendapatkan pengenceran yang lebih yaitu total mikroba pada *bebontot* besar. Dari pengenceran yang formulasi A (Tabanan) meningkat dari dikehendaki, sebanyak 0,1 ml dipipet $2,3 \times 10^6$ kol/g menjadi $5,0 \times 10^7$ kol/g, ke dalam cawan Petri yang telah berisi formulasi B (Karangasem) meningkat media EMBA yang sudah memadat, dari $2,8 \times 10^4$ kol/g menjadi $1,6 \times 10^8$ kemudian disebar ke seluruh kol/g, formulasi C (Bangli) meningkat permukaan media (*surface spread* dari $3,2 \times 10^4$ kol/g menjadi $3,4 \times 10^7$ *method*) dengan barang gelas bengkok. kol/g, formulasi D (Badung) meningkat Cawan petri yang sudah ditanami dari $1,9 \times 10^6$ kol/g menjadi $2,7 \times 10^8$ selanjutnya dimasukkan ke dalam kol/g, dan total mikroba formulasi E inkubator dengan cara terbalik dan (formulasi D ditambah *L. plantarum*) diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 meningkat dari $2,7 \times 10^6$ menjadi $3,1 \times 10^9$ kol/g. Peningkatan ini sesuai jam. Setelah waktu inkubasi 24 jam, dengan peningkatan total BAL, karena diamati mikroba yang tumbuh. Koloni pertumbuhan BAL selama proses *E. coli* yang berwarna hijau metalik fermentasi sangat dominan. pada media dihitung jumlahnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL Perubahan Total Mikroba

Perubahan total mikroba (*Aerobic Plate Count*) selama fermentasi *bebontot* dapat dilihat pada Gambar 1. Terlihat peningkatan total

Perubahan Total Bakteri Asam

Laktat

Perubahan total BAL selama fermentasi *bebontot* yang dibuat dari formulasi A, formulasi B, formulasi C, formulasi D, dan formulasi E dapat dilihat pada Gambar 2. Secara

keseluruhan, peningkatan total BAL selama 96 jam fermentasi sebagai berikut. *Bebontot* yang dibuat dari formulasi A, total BAL meningkat dari $1,0 \times 10^4$ kol/g menjadi $2,8 \times 10^8$ kol/g, *bebontot* formulasi B dari $4,6 \times 10^3$ kol/g menjadi $1,3 \times 10^8$ kol/g, *bebontot* formulasi C dari $3,1 \times 10^3$ kol/g menjadi $2,5 \times 10^8$ kol/g, *bebontot* formulasi D dari $5,5 \times 10^3$ kol/g menjadi $8,2 \times 10^8$ kol/g, dan *bebontot* formulasi E dari $9,2 \times 10^4$ kol/g menjadi $1,1 \times 10^9$ kol/g.

Perubahan Total *Escherichia coli*

Secara umum total *E. coli* pada *bebontot* dari semua formulasi selama 96 jam fermentasi mengalami penurunan (Gambar 3). Pada *bebontot* formulasi A, terjadi penurunan dari $1,7 \times 10^3$ kol/g menjadi $5,1 \times 10^1$ kol/g, formulasi B dari $3,1 \times 10^3$ kol/g menjadi $2,1 \times 10^1$ kol/g, formulasi C dari $2,6 \times 10^2$ kol/g menjadi $7,5 \times 10^1$ kol/g, formulasi D dari $1,9 \times 10^3$ kol/g

menjadi $4,5 \times 10^1$ kol/g dan formulasi E dari $1,4 \times 10^2$ kol/g menjadi $0,3 \times 10^1$ kol/g.

PEMBAHASAN

Total mikroba pada awal fermentasi dari semua formulasi berbeda; formulasi A, D, dan E terlihat lebih tinggi jika dibandingkan formulasi B dan C. Hal ini disebabkan adanya perbedaan bahan dan juga suhu fermentasi formulasi B dan C yang lebih rendah daripada formulasi lainnya. Sesuai dengan penelitian Acton *et al.* (1972), bahwa *summer sausage* yang difermentasi pada suhu 22° C, total mikrobaanya lebih rendah jika dibandingkan dengan yang difermentasikan pada suhu 37° C.

Peningkatan total BAL selama fermentasi menunjukkan bahwa BAL sangat berperan dalam fermentasi *bebontot*. Keadaan ini diperkuat oleh hasil penelitian Bacus (1984) dan Aryanta (1993) yang menyatakan

bahwa BAL sangat berperan pada proses fermentasi sosis. Adanya karbohidrat, asam-asam amino, dan asam lemak yang merupakan hasil degradasi protein dan lemak dapat menstimulir pertumbuhan BAL pada awal fermentasi (Bacus, 1984; Adams, 1986). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *bebontot* yang

difermentasi selama 96 jam untuk semua formulasi mengandung BAL sebanyak $10^8 - 10^9$ kol/g, sedangkan pada *urutan*, total BAL sebesar $10^8 - 10^9$ kol/g diperoleh setelah 48 jam fermentasi (Aryanta, 1991). Hal ini disebabkan karena perbedaan diameter selongsong dimana diameter *bebontot* lebih besar dari pada *urutan*. Sesuai pendapat Bacus (1984) bahwa makin kecil diameter selongsong makin cepat terjadinya proses fermentasi.

Penurunan jumlah *E.coli* ini disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi asam laktat dan

menurunnya pH oleh aktivitas BAL. Hal ini sesuai dengan laporan Bacus (1984) dan Lucke (1985) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi asam laktat dan penurunan pH merupakan faktor yang utama sebagai penghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen pada sosis terfermentasi.

Adanya *E.coli* pada awal fermentasi mencapai $10^2 - 10^3$ kol/g. Hal ini berbeda dengan yang dilaporkan Aryanta (1996) bahwa total *E.coli* pada *urutan* dengan fermentasi alami diperoleh 3 kol/g, sedangkan *urutan* dengan tambahan gula pada formulasinya tidak ditemukan adanya *E.coli*. Hal ini disebabkan pada proses pembuatan *urutan* dengan skala laboratorium, sedangkan dalam proses pembuatan *bebontot* dilakukan pada tempat yang berbeda serta bahan baku (daging babi) dibeli pada pasar yang berbeda.

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa selama fermentasi terjadi peningkatan total mikroba yang didominasi oleh BAL, peningkatan total BAL dan penurunan total *E. coli* pada *bebontot*. Ditinjau dari total BAL, pada semua formulasi, *bebontot* formulasi A, D, dan E setelah 48 jam fermentasi sudah memenuhi kriteria mutu sosis terfermentasi yang baik, sedangkan untuk *bebontot* formulasi B dan C adalah setelah 96 jam fermentasi. Penambahan gula dan *L. plantarum* pada produksi *bebontot* dapat mempercepat proses fermentasi.

Dalam pembuatan *bebontot* secara alamiah, hendaknya dilakukan fermentasi selama 48 – 96 jam, sedangkan bila menggunakan *L. plantarum* sebagai kultur starter, fermentasi cukup dilakukan selama 48 jam. Perlu dilakukan penelitian skala laboratorium untuk mengidentifikasi isolat BAL pada *bebontot* sampai

dengan tingkat spesies untuk menentukan spesies BAL yang baik untuk kultur starter.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. I W. Redi Aryanta, M.Sc., Ph.D., yang telah membimbing selama penelitian dan membantu dalam menyempurnakan penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Acton, J.C, Williams, J.G. and Johnson, M.G. 1972. Effect of fermentation temperature on changes in meat properties and flavour of summer sausage. *J. Milk Food Technol.* **35**:264-268.
- Adams, M.R. 1996. Fermentation flesh food. In: Progress in Industrial Microbiology. Vol. 23. *M.R. Adams* (ed.). Elsevier, Amsterdam, pp. 159 – 198.
- Aryanta, W.R. 1991. Pengaruh Konsentrasi Garam Terhadap Perubahan Mikrobiologis, Biokimiawi dan Nilai Organoleptik “Urutan” Selama Fermentasi. *Makalah yang Dipresentasikan Pada Pertemuan Ilmiah Tahunan*

*PERMI Tanggal 2-3 Desember
1991 di Bogor.*

- Aryanta, W.R. 1993. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Mutu Sosis Terfermentasi Alamiah. *Majalah Ilmiah Universitas Udayana*. Th. XX. 37:77-84.
- Bacus, J.N. 1984. *Utilization of Microorganism in Meat Processing: A Handbook for Meat Plant Operators*. John Wiley and Sons Inc., Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. *Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. PAU Pangan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Lucke, F.K. 1985. Fermented sausages. In: *Microbiology of Fermented Foods*. Vol. 2. B.J.B. Wood (ed.). Elsevier Applied Sci. Publisher, London.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press Boca Raton. Florida.
- Steinkraus, K.H. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker Inc., New York.

Tabel 1. Formulasi Bebonot (%)

Material	A Formulation	B Formulation	C Formulation	D Formulation	E Formulation
Daging	53,86	67,09	55,30	48,13	48,13
Lemak	26,93	22,37	27,65	36,18	36,18
Garam	1,70	1,22	2,99	2,20	2,20
Gula	-	-	-	1,66	1,66
Bawang Putih	1,62	3,29	3,09	2,60	2,60
Bawang Merah	4,00	-	5,60	1,15	1,15
Kunir	1,45	0,82	1,10	0,91	0,91
Kemiri	-	-	0,35	0,97	0,97
Cabe	1,78	1,39	0,98	0,88	0,88
“Base Wangen”	-	-	0,10	-	-
Jahe	-	1,42	2,43	0,34	0,34
Laos	4,04	1,58	0,41	1,23	1,23
Merica Hitam	0,02	0,13	-	0,26	0,26
“Bongkot”	1,45	-	-	-	-
Kencur	3,15	0,69	-	0,89	0,89
Sere	-	-	-	2,28	2,28
Ketumbar	-	-	-	0,32	0,32
Daun salam	3 lbr	-	-	-	-
<i>L. Plantarum</i>	-	-	-	-	10 ⁴ kol/g

Keterangan :

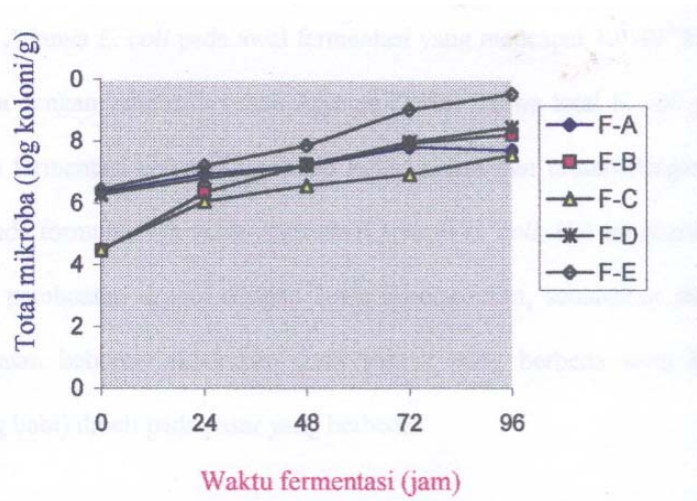
Formulasi A : Formulasi dari I Ketut Sulandra (Desa Nyitdah, Kediri, Tabanan)

Formulasi B : Formulasi dari I Made Mendra (Desa Selat, Karangasem)

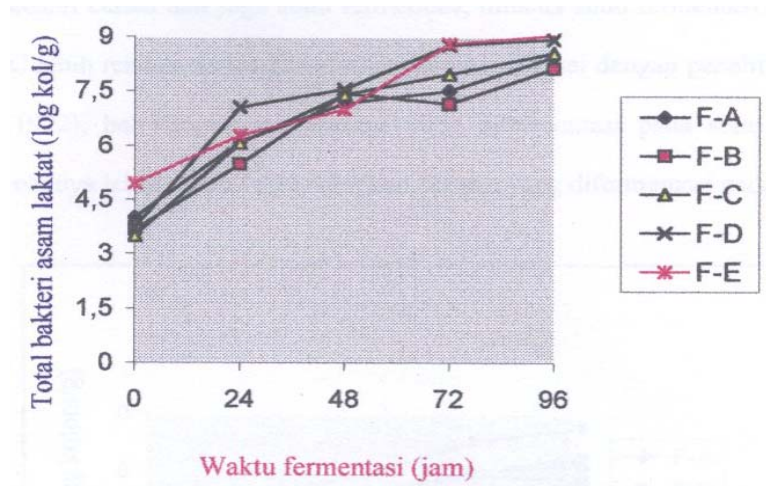
Formulasi C : Formulasi bebontot dari I B. Suarta (Desa Susut, Bangli)

Formulasi D : Formulasi D yang diinokulasi dari I Putu Tegik (Desa Peguyangan, Badung).

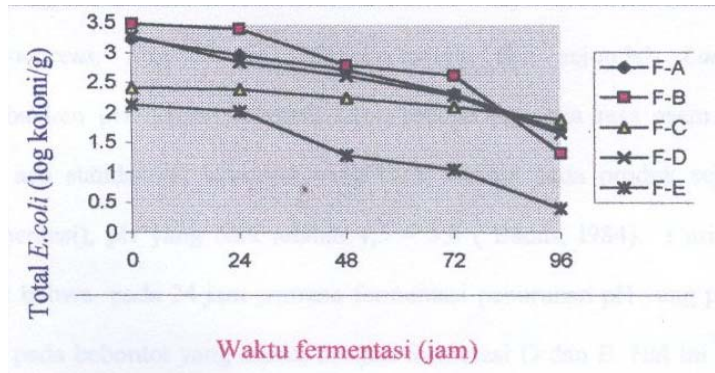
Formulasi E : Formulasi D yang diinokulasi dengan *L. Plantarum* dibuat di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana.



Gambar 1. Perubahan total mikroba selama fermentasi



Gambar 2. Perubahan total bakteri asam laktat selama fermentasi



Gambar 3. Perubahan total *E. coli* selama fermentasi