

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jkpt>

PENGARUH PENAMBAHAN KULTUR STARTER DAN METABOLIT *Lactobacillus casei* TERHADAP MUTU MIKROBIOLOGI SOSIS FERMENTASI IKAN PATIN (*Pangasius* sp.)

EFFECT OF BACTERIAL CULTURES AND METABOLITES ADDITION FROM Lactobacillus casei ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PANGASIOUS FISH (Pangasius sp.) FERMENTED SAUSAGE

Muhammad Alfid Kurnianto^{1#}, dan Hadi Munarko¹

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur

Jl. Rungkut Madya, Surabaya

E-mail: m.alfid.tp@upnjatim.ac.id

(Diterima: 20 Mei 2022; Diterima setelah perbaikan: 12 Agustus 2022; Disetujui: 24 Agustus 2022)

ABSTRAK

Sosis fermentasi ikan patin merupakan salah satu bentuk diversifikasi produk olahan ikan patin yang dibuat dengan teknologi fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Penambahan starter BAL pada pengolahan sosis fermentasi biasanya dilakukan untuk menghasilkan produk yang terstandar dan aman. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan kultur bakteri dan metabolit hasil produksi *Lactobacillus casei* secara individu dan campuran terhadap mutu dan keamanan mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk sosis fermentasi ikan patin memiliki pH dan aktivitas air (a_w) dengan rentang 4,42 – 4,73 dan 0,967 – 0,978. Pemberian perlakuan secara signifikan mempengaruhi mutu mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin. Perlakuan penambahan BAL maupun kombinasi BAL dan metabolit setelah pematangan 28 hari memiliki kandungan angka lempeng total (ALT) dan total Enterobacteriaceae tidak berbeda nyata, serta tidak ditemukan cemaran *E. coli* dan *Salmonella* sp. Sementara itu, perlakuan penambahan metabolit memiliki ALT dan BAL terendah, serta ditemukan cemaran *E. coli* pada produk setelah pematangan 28 hari. Perlakuan kombinasi BAL dan metabolit merupakan perlakuan terbaik karena mampu menjaga produk tetap memenuhi standar keamanan mikrobiologi sosis hingga masa pematangan selesai dengan kandungan BAL tertinggi.

KATA KUNCI: Bakteri asam laktat; produk fermentasi ikan; metabolit bakteri; keamanan pangan; mutu mikrobiologis

ABSTRACT

*Pangasius fish fermented sausage is one of the pangasius fish product diversification made by fermentation technology using lactic acid bacteria (LAB). The addition of LAB cultures on the fermented sausage processing is usually applied to meet the standard and safety of the product. This study aimed to evaluate the effect of adding bacterial cultures and metabolites produced by Lactobacillus casei both individually and in combination on the quality and microbiological food safety of pangasius fish fermented sausage. The results showed that the pangasius fish fermented sausage had pH and a_w in the range of 4.42 – 4.73 and 0.967 – 0.978, respectively. The treatments significantly affected the microbiological quality of fermented Pangasius fish sausage. Total plate count (TPC) and total Enterobacteriaceae of fermented sausage treated with LAB or the combination of LAB and metabolites after 28 days ripening were not significantly different, while *E. coli* and *Salmonella* sp. contamination were not detected. Meanwhile, the treatment of metabolites had the lowest TPC and LAB content, and *E. coli* contamination was found in the product after 28 days of ripening. The treatment of a combination of LAB and metabolites is chosen as selected treatment because it was able to maintain the product in compliance with the microbiological safety standards of sausages until the ripening period is complete with the highest LAB content.*

Korespondensi: Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur
E-mail: m.alfid.tp@upnjatim.ac.id

KEYWORDS: *Lactic acid bacteria; fish fermented product; bacterial metabolit; food safety; microbiology quality*

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan salah satu komoditas perikanan budidaya air tawar yang menjanjikan. Berdasarkan data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan, produksi ikan patin terus mengalami peningkatan dari 319.967 ton pada tahun 2016 menjadi 384.310 ton pada tahun 2019 (KKP, 2020). Ikan patin tinggi kandungan protein (12,94–17,52%), rendah lemak (0,89–1,23%), dan mengandung beragam asam amino esensial (Suryaningrum et al., 2010). Namun, kandungan zat gizi yang tinggi juga dapat menyebabkan ikan patin mudah mengalami kerusakan (*perishable food*) (Harmain et al., 2012). Selain itu, ikan patin juga dikenal memiliki *off-flavor* berupa bau tanah yang kurang disukai oleh konsumen (Djamil et al., 2021). Oleh karena itu, dibutuhkan diversifikasi produk yang tepat untuk menangani masalah tersebut, salah satunya diolah menjadi produk sosis fermentasi.

Sosis fermentasi merupakan produk olahan daging dalam selubung (*casing*) yang dibuat melalui proses fermentasi dengan atau tanpa bantuan kultur starter bakteri (Leroy et al., 2006). Penggunaan kultur starter lebih disukai karena dapat menghasilkan produk hasil fermentasi yang terstandar dan aman (Cruxen et al., 2018). Kultur starter bakteri asam laktat (BAL) yang banyak digunakan dan tersedia secara komersial umumnya berasal dari genus *Lactobacillus*, *Streptococcus* dan *Micrococcus* (Arief et al., 2010).

Selama proses fermentasi, BAL menghasilkan beragam metabolit seperti asam laktat, asam sitrat, dan asam asetat, serta enzim seperti nitrat reduktase, katalase, lipolitik dan proteolitik (Fonseca et al., 2013; Sallan et al., 2022). Beragam metabolit tersebut berperan penting dalam penurunan pH serta pembentukan rasa, tekstur, dan aroma (Sallan et al., 2022). Studi Cruxen et al., (2018) melaporkan bahwa sosis fermentasi memiliki karakteristik rasa cenderung asam (pH 4,8 – 5,5), aktivitas air (a_w) di bawah 0,92, tekstur lebih padat, serta aroma khas akibat pembentukan beberapa senyawa volatil asam, ester keton, aldehida, terpenoid, dan belerang. Metabolit yang dihasilkan oleh BAL juga berperan dalam memperpanjang masa simpan produk (Holck et al., 2017). Produksi asam organik selama fermentasi menyebabkan penurunan pH produk sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen (Kim et al., 2014). Selain itu, BAL juga menghasilkan metabolit bersifat antimikroba seperti bakteriosin. Bakteriosin merupakan protein pendek atau peptida hasil sintesis secara ribosomal yang

mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain yang berkerabat dekat dengan strain produsen (Kurnianto et al., 2021). Bakteriosin diketahui mampu menghambat bakteri patogen dan pembusuk pangan seperti *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Listeria monocytogenes* (Kurnianto et al., 2021; Niederhäusern et al., 2020; Sheoran & Tiwari, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi mutu mikrobiologi sosis fermentasi ikan patin dengan perlakuan penambahan kultur starter dan metabolit dari bakteri *Lactobacillus casei* yang ditambahkan secara individu maupun campuran selama waktu pematangan 28 hari.

BAHAN DAN METODE

Preparasi kultur bakteri

Isolat tunggal *Lactobacillus casei* disegarkan dalam medium *MRS broth* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu, kultur diinokulasikan ke dalam larutan susu skim steril 10% dan diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37 °C. Kultur kemudian ditumbuhkan pada medium MRS agar untuk mengetahui populasinya. Kultur dengan populasi $>10^8$ CFU mL⁻¹ digunakan sebagai kultur kerja. Kultur starter kerja diinokulasi kembali ke dalam *MRS broth*, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C, dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C untuk mendapatkan kultur starter siap pakai (Harmain et al., 2012).

Preparasi metabolit bakteri

Kultur kerja *Lactobacillus casei* diinokulasikan pada medium *MRS broth* dan diinkubasi pada 37 °C selama 18 jam (fase pertumbuhan eksponensial) dalam *incubator shaker*. Setelah itu, kultur bakteri disentrifugasi pada 7000 x g, 4 °C selama 15 menit untuk memisahkan supernatan mengandung metabolit dan biomassa sel. Supernatan mengandung metabolit bebas sel diukur nilai pHnya, dikeringkan dengan *freeze dryer* dan disimpan pada suhu *freezer* (-20°C) untuk analisis selanjutnya (Desniar, 2012; Kurnianto et al., 2020).

Pembuatan sosis fermentasi

Ikan patin dibersihkan, *difillet* dan digiling menggunakan *meat grinder*. Daging ikan giling (500 g) lalu dicampur dengan garam (10 g), gula (1,5), isolat protein kedelai (20 g), susu skim (30 g), dan bumbu rempah (lada 1 g, lengkuas 0,4 g, jahe 0,4 g, kayu manis 0,3 g, bawang putih bubuk 0,3 g dan cengkeh

0,2 g), kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya, campuran daging ikan giling diberikan kultur bakteri *Lactobacillus casei* secara individu (T1), kombinasi kultur bakteri dan metabolit *Lactobacillus casei* (T2) dan metabolit *Lactobacillus casei* secara individu (T3) sebanyak 2 mL per 500 g adonan dan dihomogenkan kembali. Kultur bakteri memiliki kepadatan populasi $1,45 \times 10^8 - 2,30 \times 10^8$ CFU mL⁻¹. Adonan dimasukkan ke dalam casing kolagen (panjang 10 cm), dan dilakukan pemeraman selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah pemeraman selesai, adonan sosis fermentasi dilakukan pengasapan dingin dengan suhu berkisar 25 – 35 °C selama 10 jam (Arief et al., 2010). Selanjutnya, dilakukan pematangan pada sosis fermentasi selama 28 hari pada suhu ruang dengan pengambilan sampel analisis setiap tujuh hari.

Analisis aktivitas air dan pH

Analisis aktivitas air (a_w) dilakukan dengan a_w meter (Shibaura WA-360). Sementara itu, analisis pH dilakukan menggunakan pH meter (Horiba PH1300) yang telah terkalibrasi (Usan et al., 2021).

Analisis angka lempeng total (ALT) dan total Enterobacteriaceae

Sosis fermentasi dilarutkan dalam larutan *buffer peptone water* (BPW) 0,1 % dan dihomogenkan, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10⁻⁵. Sebanyak 1 mL sampel hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri, ditambahkan medium pertumbuhan, dan dihomogenkan. Medium PCA (*plate count agar*) digunakan untuk analisis ALT sedangkan medium VRBGA (*Violet Red Bile Glucose-Agar*) digunakan untuk analisis total Enterobacteriaceae (BSN, 2008). Medium dibiarkan memadat dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Petri dengan jumlah koloni antara 25 – 250 dihitung dengan rumus perhitungan:

$$N = \frac{\sum C}{[(N1 \times 1) + (N2 \times 2)]} \times d$$

N merupakan jumlah koloni yang dinyatakan dalam CFU mL⁻¹, $\sum C$ adalah total jumlah koloni yang dihitung, N1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang koloninya dapat dihitung, N2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang koloninya dapat dihitung, dan d adalah pengenceran pertama yang dihitung (BAM, 2001).

Analisis kualitatif *Escherichia coli*

Analisa kualitatif *Escherichia coli* (*E. coli*) mengacu pada SNI No. 2897 Tahun 2008 (BSN, 2008). Analisa terdiri dari tahap pendugaan, penegasan dan identifikasi secara biokimia. Tahap pendugaan diawali

dengan pengenceran sampel dalam *buffer*, inokulasi ke dalam tabung reaksi berisi tabung durham dan medium LTB (*Laury Tryptose Broth*), serta inkubasi selama 24 jam pada 37 °C. Sampel positif (ditandai dengan kekeruhan dan pembentukan gas dalam tabung durham) diinokulasikan pada tabung reaksi berisi medium ECB (*E. coli Broth*) dan tabung durham, dan diinkubasi selama 48 jam pada 37 °C. Tabung dengan hasil positif (ditandai dengan terbentuknya gas dan kekeruhan medium) direkapitulasi untuk mengetahui jumlah pendugaan *E. coli* menggunakan angka paling memungkinkan (APM) (SNI 2006). Tahap penegasan dilakukan dengan menggoreskan sampel dari tabung ECB positif pada medium EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Koloni dengan ciri berwarna hitam pada bagian tengah dan dengan atau tanpa hijau metalik diduga merupakan *E. coli*. Pada tahap identifikasi, koloni positif dari hasil analisis pada medium EMBA dilakukan uji biokimia IMViC (*Indol Metil Voges-Proskauer Citrate*). Pada uji IMViC, masing-masing koloni positif diinokulasikan pada medium TB (pembentukan *indol*), *Methyl Red*, *Voges Proskauer*, dan SCA, dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam. Sampel positif *E. coli* ditandai dengan hasil uji TB dan MR positif (+), dan uji VP dan *citrate* negatif (-).

Analisis kualitatif *Salmonella*

Analisis kualitatif *Salmonella* sp. mengacu pada SNI No.2897 Tahun 2008 (BSN, 2008). Analisis terdiri dari tahap pra-pengayaan, pengayaan selektif, isolasi dan identifikasi. Tahap pra-pengayaan dimulai dengan homogenasi sampel menggunakan *stomacher*, dilanjutkan dengan pengenceran, inokulasi sampel pada medium LB (*Luria-Bertani Broth*), dan inkubasi pada suhu 35°C selama 24 – 48 jam. Pada tahap pengayaan selektif, sebanyak 0,1 mL medium LB hasil tahap pra-pengayaan diambil dan diinokulasikan ke medium RV (*Rappaport-Vassiliadis*) dan TTB (*Tetrathionate Broth Base*), Medium RV dan TTB masing-masing diinkubasi pada suhu 37 dan 42 °C selama 24 jam. Pada tahap isolasi, koloni terduga *Salmonella* dari masing-masing medium (RV dan TTB) digoreskan pada medium HEA (*Hektoen Enteric Agar*), BSA (*Bismuth Sulphite Agar*) dan XLDA (*Xyloe-Lysine-Deoxycholate Agar*), dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 – 48 jam. Identifikasi dilakukan berdasarkan karakteristik koloni yang tumbuh pada medium agar. Pada medium HEA, koloni *Salmonella* memiliki karakteristik warna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam. Pada medium BSA, koloni memiliki warna keabu-abuan atau kehitaman atau metalik dengan *halo effect* berwarna coklat gelap di sekitar koloni. Pada medium XLDA, koloni memiliki ciri berwarna merah muda dengan atau tanpa warna hitam di bagian tengah. Koloni

dengan karakteristik tersebut dilakukan identifikasi lanjut dengan menginokulasikannya pada medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dan LIA (*Lysine-Iron Agar*), dan diinkubasi pada 35 °C selama 48 jam. Pada medium TSIA, koloni *Salmonella* akan berwarna merah atau kuning dengan atau tanpa warna hitam. Pada medium LIA, *Salmonella* akan menghasilkan warna hitam.

Analisis total BAL

Analisis total BAL dilakukan berdasarkan metode BAM (2001). Sosis fermentasi yang telah dihomogenisasi, dilarutkan dalam *buffer* NaCl, dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-5} . Sebanyak 1 mL masing-masing suspensi sampel hasil pengenceran diambil dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi medium MRS agar dengan penambahan CaCO_3 1 %, dan tunggu hingga medium memadat. Setelah padat, campuran medium MRS agar dan suspensi sampel dilakukan *overlay* dengan medium yang sama dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Banyaknya koloni bakteri asam laktat dihitung menggunakan rumus perhitungan BAM.

Analisis statistik

Percobaan penelitian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, dan hasil dinyatakan sebagai rata-rata \pm standar deviasi (SD). Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS 18.0 dengan analisis ANOVA dan uji Duncan (95% *confidence level*) untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

HASIL DAN BAHASAN

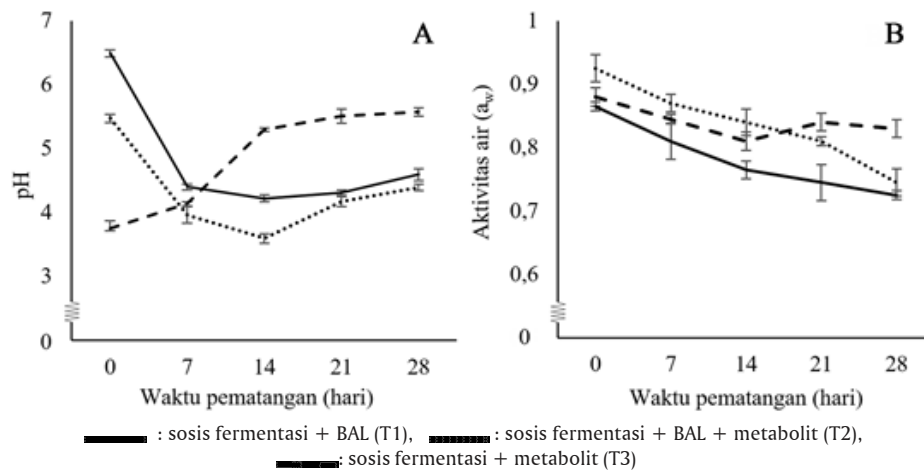
Nilai pH dan a_w sosis ikan fermentasi

Gambar 1 menunjukkan perubahan pH dan a_w sosis fermentasi ikan patin selama waktu pematangan 28 hari. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai pH awal (hari ke-0) sosis fermentasi berkisar antara pH 3,75 – 6,49. Nilai pH pada perlakuan T3 secara signifikan lebih rendah dibandingkan T1 dan T2. Hal tersebut disebabkan oleh penambahan hanya metabolit bakteri *L. casei* yang memiliki pH mencapai $3,24 \pm 0,53 - 4,65 \pm 0,74$. Hasil analisis juga menunjukkan nilai pH pada perlakuan T1 dan T2 mengalami penurunan yang signifikan selama 14 hari pertama masa pematangan yaitu mencapai pH 4,28 dan 3,59. Selanjutnya, nilai pH tersebut meningkat pada hari ke-21 hingga 28. Hasil penelitian ini sesuai dengan Mendonça et al. (2013) di mana pada sosis fermentasi terjadi penurunan pH terjadi pada 7 hari pertama pematangan dari pH 5,9 menjadi pH 4,4. Selanjutnya, nilai pH cenderung meningkat hingga pH 5,25 pada akhir masa pematangan. Studi lain juga menunjukkan bahwa

selama 6 hari pertama proses pematangan sosis fermentasi, terjadi penurunan nilai pH dari pH 5,84 menjadi pH 4,74 – 5,01. Pada hari ke-12 (akhir masa pematangan), pH cenderung meningkat hingga pH 5,13 (Ozturk et al. 2020). Berbeda dengan T1 dan T2, hasil uji menunjukkan nilai pH pada perlakuan T3 terus mengalami peningkatan selama masa pematangan dari pH 3,75 menjadi pH 5,57. Hasil ini sesuai dengan penelitian Aritonang et al. (2020) yang melaporkan sosis fermentasi dengan penambahan hanya bakteriosin (metabolit produksi BAL) juga terus mengalami peningkatan selama masa pematangan 12 hari dari pH 5,32 menjadi pH 5,43. Sosis fermentasi dengan penambahan hanya bakteriosin juga menunjukkan peningkatan nilai pH selama 20 hari masa pematangan dari pH 4,81 menjadi pH 5,43 (Barbosa et al. 2017).

Perubahan pH yang terjadi pada proses pematangan sosis fermentasi ikan patin diduga disebabkan karena pertumbuhan mikroorganisme dan aktivitas enzimatis. Studi Liu et al., (2021) melaporkan bahwa penurunan nilai pH pada awal proses fermentasi disebabkan karena aktivitas pertumbuhan BAL dan produksi metabolitnya seperti asam laktat dan asam asetat. Metabolit tersebut mampu menurunkan pH produk menjadi lebih rendah sehingga dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen dan pembusuk (Flores & Toldrá, 2011; Liu et al., 2021). Sementara itu peningkatan nilai pH diduga disebabkan oleh aktivitas enzim dekarboksilase yang memainkan peran penting dalam mengubah asam amino menjadi basa amina (*biogenic amines*) (Liu et al., 2021). Kusmajadi (2012) juga melaporkan meningkatnya nilai pH sosis seiring waktu pematangan terjadi akibat aktivitas enzim dan dekomposisi senyawa kimia seperti protein yang menghasilkan produksi senyawa basa seperti indol, scatol dan cadaverin.

Selain itu, faktor pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme seperti khamir diduga juga menyebabkan peningkatan pH. Khamir dengan genus seperti *Zygosaccharomyces*, *Debaryomyces* dan *Hansenula* dilaporkan berasosiasi dalam produk fermentasi ikan (Paludan-Müller et al. 2002) Mendonça et al., (2013), melaporkan bahwa jumlah khamir dalam sosis fermentasi meningkat pada hari ke-7 masa pematangan seiring dengan terjadinya peningkatan nilai pH sosis fermentasi artisanal. Beberapa khamir seperti *D. hansenii* dapat mendegradasi asam laktat dan asam asetat sehingga menyebabkan pergeseran pH produk ke arah netral (Flores-andrade et al. 2015; Ozturk et al. 2021). Pada sosis fermentasi, aktivitas khamir mampu mencegah atau mengurangi pengasaman yang berlebih pada produk sehingga produk akhir tidak terlalu asam dan memiliki rasa yang lebih manis (Mendonça et al., 2013). Selain itu, faktor lain



Gambar 1. Perubahan pH (A) dan a_w (B) sosis fermentasi ikan patin selama waktu pematangan 28 hari; *Figure 1. pH (A) and a_w (B) changes of pangasius fish fermented sausage during ripening for 28 days*

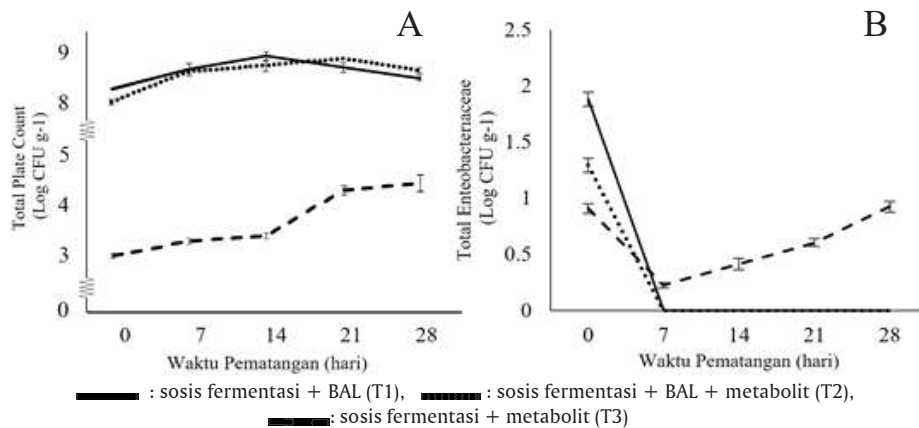
seperti pembentukan senyawa N non-protein dan ion basa amonium berpasangan dengan aksi penyangga protein juga mampu meningkatkan nilai pH (Mendonça et al., 2013; Patrignani et al., 2007).

Hasil analisis a_w pada sosis fermentasi ikan patin disajikan pada Gambar 1. Selama 14 hari pertama waktu pematangan, nilai a_w sosis fermentasi T1, T2 dan T3 menunjukkan tren penurunan dari berkisar 0,865 – 0.925 menjadi 0.765 – 0.842. Tren penurunan nilai a_w terus terjadi pada sosis fermentasi T1 dan T2 hingga mencapai nilai a_w akhir berkisar 0.725 – 0.745 pada hari ke-28. Hasil ini sesuai dengan studi Martín et al. (2021) dan Usan et al., (2021) yang melaporkan penurunan a_w pada sosis fermentasi Salchiron dan turki setelah pematangan masing-masing selama 90 dan 30 hari. Penurunan a_w diduga terkait dengan penurunan pH produk oleh asam yang dihasilkan dari aktivitas BAL, yang mana pH rendah menyebabkan protein otot mampu menyentuh isoelektrik yang mengakibatkan denaturasi dan hilangnya kemampuan menahan air yang mendorong proses pengeringan sosis fermentasi (Jung et al., 2015; Toldra et al. 2007). Studi lain oleh Cavalheiro et al., (2019) menunjukkan bahwa semakin rendah penurunan nilai pH produk sosis fermentasi, maka nilai a_w yang terkandung pada produk juga semakin berkurang. Penurunan nilai a_w juga diduga disebabkan proses penguapan akibat pengasapan yang dilakukan sebelum proses fermentasi (Harmain et al., 2012). Proses pengasapan tersebut menyebabkan bagian permukaan sosis menjadi lebih kering akibat penguapan air bebas. Studi Nisa dan Wardani (2016) juga menunjukkan bahwa lama pengasapan berpengaruh signifikan terhadap kadar air (%), yang mana semakin lama pemasakan maka kadar air akan semakin menurun. Menurut Ozturk et al. (2021) a_w dari sosis fermentasi berkorelasi positif dengan kadar air.

Berbeda dari T1 dan T2, sosis fermentasi T3 mengalami peningkatan nilai a_w setelah hari ke-14 waktu pematangan, meskipun pada hari ke-21 hingga 28 nilai a_w kembali mengalami penurunan. Fluktuasi nilai a_w tersebut juga ditemukan pada studi Mendonça et al., (2013), yang mana penurunan a_w pada sosis fermentasi artisanal terjadi hingga hari ke-10 dilanjutkan kenaikan pada hari ke-20, dan menurun lagi hingga hari ke-50. Fluktuasi nilai a_w diduga berhubungan dengan peningkatan nilai pH produk (Gambar 1), yang mana sosis fermentasi ikan patin T3 pada hari ke-14 memiliki nilai pH tinggi yaitu pH 5,3. Toldra (2007) dan Ozturk et al. (2021) menyatakan bahwa sosis fermentasi dengan nilai pH tinggi memiliki kapasitas retensi air yang tinggi sehingga proses penurunan nilai a_w atau pengeringan produk menjadi terhambat (Toldra 2007). Penurunan nilai a_w dalam proses pematangan sosis fermentasi penting karena dapat memperpanjang umur simpan dan keamanan produk karena mampu menghambat berbagai aktivitas dari mikroorganisme pembusuk dan enzim (Martín et al. 2021).

Keamanan mikrobiologi sosis fermentasi

Analisis cemaran ALT menunjukkan bahwa selama masa pematangan hingga 28 hari, T1 dan T2 memiliki nilai ALT yang tidak berbeda signifikan dengan kisaran antara 8,08 – 8,78 Log CFU g^{-1} . Nilai ALT tertinggi pada T1 diperoleh pada hari ke-14 (8,78 Log CFU g^{-1}) dan T2 diperoleh pada hari ke-21 (8,74 Log CFU g^{-1}). Sementara itu, nilai ALT T3 secara signifikan lebih rendah dibandingkan T1 dan T2 (Gambar 2). T3 memiliki nilai ALT tertinggi hanya sebesar 4,77 Log CFU g^{-1} pada hari ke-28. Perbedaan nilai ALT disebabkan karena T3 tidak diberikan penambahan kultur starter BAL dan hanya diberikan supernatan bebas sel yang berisi produk metabolisme BAL. Arief et al., (2010)



Gambar 2. Pertumbuhan total koloni bakteri (ALT) (A) dan total Enterobacteriaceae (B) sosis fermentasi ikan patin selama waktu pematangan 28 hari

Figure 2. Total plate count (TPC) (A) and total Enterobacteriaceae (B) growth of fish fermented sausage during ripening for 28 days

dan Kim et al., (2014) menyatakan bahwa umumnya pembuatan sosis fermentasi menggunakan $10^6 - 10^8$ CFU mL⁻¹ kultur starter BAL. Penambahan kultur starter BAL menyebabkan peningkatan nilai ALT hingga menjadi 10^8 CFU mL⁻¹ (Harmain et al., 2012; Holck et al., 2017).

Hasil analisis ALT juga menunjukkan terjadinya fluktuasi nilai ALT pada periode tertentu selama proses pematangan (Gambar 2). Pada T1 dan T2, tren peningkatan nilai ALT terjadi dari hari ke-0 (8,085 – 8,275 Log CFU g⁻¹) hingga hari ke-14 dan 21 (8,740 – 8,780 Log CFU g⁻¹). Pada hari ke-14 hingga 28, nilai ALT cenderung mengalami penurunan. Peningkatan nilai ALT diduga disebabkan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, terutama bakteri asam laktat, yang ditambahkan pada adonan sosis fermentasi masih mendukung. Selain itu, kondisi lingkungan yang cenderung asam juga ikut mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat dan mengeliminasi pertumbuhan bakteri kontaminan. Rolfe dan Daryaei (2020) menyatakan bahwa faktor-faktor lingkungan atau faktor ekstrinsik seperti nutrisi, pH, aktivitas air, suhu, dan jumlah oksigen berperan besar dalam pertumbuhan bakteri pada produk pangan. Sosis fermentasi cenderung memiliki pH yang rendah (pH $\leq 5,0$) sehingga hanya bakteri bersifat asidofilik seperti kelompok BAL yang mampu mempertahankan pertumbuhannya (Flores & Piornos, 2021; Holck et al., 2017; Seleshe & Kang, 2021).

Berbeda dari T1 dan T2, nilai ALT T3 cenderung mengalami peningkatan selama waktu pematangan (Gambar 2). Peningkatan nilai ALT yang signifikan terjadi pada masa akhir pematangan yaitu hari ke-14 hingga 28 (3,455 – 4,775 Log CFU g⁻¹). Nilai ALT yang meningkat diduga disebabkan adanya pertumbuhan bakteri kontaminan yang tidak mengalami kematian

(dalam kondisi *injury*) setelah diberikan perlakuan metabolit BAL yang cenderung memiliki pH rendah (pH $\leq 5,0$) dan mampu melakukan *recovery* ketika kondisi lingkungan sudah mendukung. Studi Wahyuni (2015) menyatakan bahwa golongan bakteri *coliform* (termasuk famili Enterobacteriaceae) hanya mampu hidup pada lingkungan dengan pH mendekati netral (pH 6,0 – 7,0). Pada pH asam (pH $< 7,0$) kemampuan hidup *coliform* turun sebanyak 40 %, sementara pada pH basa (pH $> 7,0$) kemampuan hidup *coliform* juga menurun sekitar 30 % untuk setiap peningkatan atau penurunan pH. Studi lain proses pada pematangan keju menunjukkan bahwa *coliform* umumnya tidak aktif atau pertumbuhannya terhambat oleh penurunan pH akibat aktivitas BAL selama proses pematangan keju. Namun, ketika keju telah mengalami penuaan, terjadi proses proteolisis yang menyebabkan peningkatan nilai pH sehingga dapat mendukung kembali pertumbuhan *coliform* (Martin et al., 2016).

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri Gram-negatif yang mampu bersifat sebagai patogen oportunistik ataupun bersifat sebagai bakteri pembusuk. Kelompok ini mencangkup beberapa bakteri seperti *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Erwinia* spp., *Pectobacterium* spp. dan *Chronobacter* spp. (D'Agostino & Cook, 2015). Analisis total Enterobacteriaceae menunjukkan T1 dan T2 memiliki tren yang sama, yang mana terjadi penurunan total Enterobacteriaceae secara signifikan pada hari pematangan ke-7. Pada hari tersebut tidak terdeteksi koloni Enterobacteriaceae pada produk. Tren ini terus terjadi hingga hari pematangan ke-28. Sementara itu pada T3, total Enterobacteriaceae sempat menunjukkan penurunan nilai pada hari pematangan ke-7. Namun pada hari ke-14 hingga 28, nilai total Enterobacteriaceae meningkat secara signifikan hingga 0,995 Log CFU mL⁻¹ (Gambar

2). Aktivitas BAL dalam menghasilkan beragam metabolit seperti asam laktat, asam asetat, dan bakteriosin diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan kelompok bakteri Enterobacteriaceae (Arief et al., 2013). Studi Kim et al., (2014) dan Yoo et al., (2015) menunjukkan korelasi positif antara pertumbuhan BAL dengan produksi asam laktat, yang mana terjadi peningkatan asam laktat hingga 23 mg/g selama pematangan sosis fermentasi. Sementara itu, peningkatan total Enterobacteriaceae pada T3 diduga terjadi karena peningkatan pH produk akibat adanya aktivitas khamir (Gambar 1). Khamir mampu mendegradasi asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL seperti asam laktat dan asam asetat sehingga menyebabkan pergeseran nilai pH menuju netral (Flores et al. 2015; Ozturk et al. 2021). Kondisi ini memicu kemungkinan bakteri yang tidak diinginkan seperti Enterobacteriaceae untuk tumbuh. Selain aktivitas khamir, perubahan pH yang memicu peningkatan total Enterobacteriaceae juga didapat disebabkan interaksi antara matriks pangan dengan metabolit. Menurut Suryanti et al., (2011), pH rata-rata dari daging ikan patin segar yang telah dilumat berkisar antara pH 7,19 – 7,24. Sedangkan pH dari metabolit yang dihasilkan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* berkisar antara pH 3,40 – 3,65 (Noor et al., 2018). Interaksi tersebut memungkinkan pH metabolit bakteri yang rendah bergeser ke arah netral akibat pencampuran dengan bahan baku sosis fermentasi yaitu ikan. Analisis lebih lanjut total Enterobacteriaceae dilakukan terhadap bakteri *Salmonella* dan *E. coli* yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis kualitatif keberadaan *Salmonella* sp. dan *E. coli* pada sosis fermentasi ikan patin dengan tiga perlakuan berbeda selama waktu pematangan 28 hari

Table 1. Qualitative analysis of *Salmonella* sp. and *E. coli* in pangasius fish fermented sausage at three different treatments during ripening for 28 days

Waktu pematangan (hari)	<i>E. coli</i>			<i>Salmonella</i>		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
0	+	+	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
14	-	-	+	-	-	-
21	-	-	+	-	-	-
28	-	-	+	-	-	-

Keterangan : T1 (sosis fermentasi + BAL); T2 (sosis fermentasi + BAL + Metabolit); T3 (sosis fermentasi + metabolit); (-): negatif *E. coli* / *Salmonella*; (+): positif *E. coli* / *Salmonella*

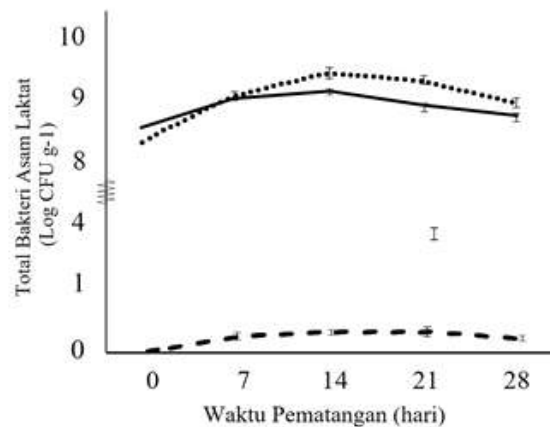
Menurut BSN (2013) pada SNI 7755:2013, untuk menjamin mutu dan keamanan pangan sosis ikan dipersyaratkan cemaran mikroba untuk *Salmonella* harus negatif per 25 g dan *E. coli* harus di bawah 3

APM per gram. Hasil analisis menunjukkan bahwa semua perlakuan negatif dari keberadaan *Salmonella* dari awal (hari ke-0) hingga hari akhir pematangan (hari ke-28). Sementara itu pada analisis *E. coli*, perlakuan T1 dan T2 pada hari pematangan ke-0 menunjukkan hasil positif. Keberadaan *E. coli* pada produk dapat disebabkan karena bahan baku yang merupakan reservoir primer dari *E. coli* atau adanya kontaminasi silang pada beberapa titik kritis proses produksi sosis fermentasi ikan patin yang menjadi sumber *E. coli* seperti pada tahap pencucian bahan baku dengan air, penambahan bumbu-bumbu, pengasapan dan pematangan (Graumann & Holley, 2008). Pada waktu pematangan selanjutnya, pertumbuhan *E. coli* diduga terhambat sehingga pada akhir waktu pematangan (hari ke-28) kedua perlakuan menunjukkan hasil negatif. Terhambatnya pertumbuhan *E. coli* diduga disebabkan karena penurunan pH yang terjadi pada produk. Studi Xu et al. (2020) dan Philip et al. (2018) menunjukkan bahwa, *E. coli* mampu tumbuh dengan optimal pada kisaran pH 6,5 – 7,5. Sedangkan pada pH rendah, pH 2,0 – 4,0, *E. coli* hanya dapat bertahan dengan tanpa melakukan pertumbuhan. Pada perlakuan T3, analisis *E. coli* menunjukkan hasil negatif pada hari pematangan ke-0 hingga 14. Pada hari pematangan selanjutnya (hari ke-21 hingga 28), hasil analisis *E. coli* menunjukkan hasil positif. Hasil tersebut sejalan dengan analisis Enterobacteriaceae sebelumnya, yang mana terjadi peningkatan total Enterobacteriaceae yang dimulai dari hari pematangan ke-14 hingga 28.

Berdasarkan hasil analisis mutu mikrobiologis yang telah dilakukan, hanya sosis fermentasi T1 dan T2 yang dapat dikatakan aman secara mikrobiologis karena mampu menjaga stabilitas pada nilai ALT, memiliki nilai total Enterobacteriaceae yang negatif hingga akhir masa pematangan, serta memenuhi kriteria keamanan pangan mikrobiologis SNI 7755:2013 pada keberadaan *E. coli* dan *Salmonella*.

Total BAL

BAL merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama metabolismenya (Françoise, 2010). Genus terbesar dari kelompok BAL dengan lebih dari 200 spesies adalah *Lactobacillus* (Sun et al., 2015). *Lactobacillus casei* merupakan salah satu spesies dari *Lactobacillus* yang telah banyak digunakan karena potensi komersial, industri dan kesehatannya (Hill et al., 2018). Hasil analisis total BAL menunjukkan bahwa T1, T2 dan T3 memiliki kecenderungan tren pertumbuhan yang hampir identik, yang mana peningkatan pertumbuhan BAL terjadi dari hari ke-0 hingga mencapai puncak pada hari ke-14 dengan nilai total BAL tertinggi mencapai 9,185 Log CFU g⁻¹ (perlakuan T2). Setelah hari ke-14, pertumbuhan BAL cenderung menurun



— : sosis fermentasi + BAL (T1), - - - : sosis fermentasi + BAL + metabolit (T2), : sosis fermentasi + metabolit (T3)

Gambar 3. Pertumbuhan total BAL pada sosis fermentasi ikan patin selama waktu pematangan 28 hari
 Figure 3. Lactic acid bacteria growth in pangasius fish fermented sausage during ripening for 28 days

hingga mencapai total BAL terendahnya pada hari ke-28. Hasil penelitian ini sejalan dengan Harmain et al., (2012), di mana studi tersebut menunjukkan nilai total BAL *L. plantarum* 1B1 dalam sosis fermentasi ikan patin mengalami peningkatan hingga 8,8 Log CFU g⁻¹ pada hari ke-8, dan mulai mengalami penurunan nilai total BAL dari hari ke-12 hingga 20. Studi Liu et al. (2021) juga menunjukkan bahwa populasi BAL *L. delbrueckii* N102 dan *L. sakei* H1-5 selama pematangan sosis fermentasi mengalami puncak pertumbuhan pada hari ke-5 sebesar 8,79 dan 8,69 Log CFU g⁻¹, dan mulai mengalami stagnansi hingga penurunan pertumbuhan dari hari ke-10 hingga 25. Peristiwa penurunan pertumbuhan BAL setelah mencapai pertumbuhan puncak dapat disebabkan beberapa faktor seperti nutrisi yang semakin sedikit dan kondisi pH rendah produk yang mampu menghambat pertumbuhan BAL itu sendiri (Yan et al., 2022).

Meskipun memiliki tren pertumbuhan yang serupa, antara T1, T2 dan T3 memiliki nilai total BAL yang berbeda signifikan (Gambar 3). Perbedaan tersebut salah satunya disebabkan oleh adanya perlakuan penambahan kultur starter BAL. Pada T1 dan T2, di mana sosis ikan ditambahkan kultur starter BAL, nilai total BAL tertinggi mencapai 8,940 – 9,185 Log CFU g⁻¹. Sedangkan pada T3, yang tidak ditambahkan kultur starter BAL, nilai total BAL tertinggi hanya 0,37 Log CFU g⁻¹. Menurut Françoise (2010), kandungan BAL alami pada daging ikan tergolong rendah. Hal ini disebabkan karena persentase karbohidrat yang rendah dan pH *post-rigor* yang tinggi (pH 6,5) menyebabkan hanya bakteri Gram-negatif psikotrofik alami pada ikan seperti *Pseudomonas* dan *Shewanella* yang mampu melakukan pertumbuhan secara cepat. Berbeda dari daging mamalia yang tinggi kandungan glikogen yang menyebabkan proses pengasaman pada *post-rigor* (pH

< 5,5) sehingga memungkinkan BAL untuk tumbuh (Pothakos et al., 2015).

KESIMPULAN

Proses fermentasi pada sosis fermentasi ikan patin dengan tiga perlakuan berbeda selama 28 hari menghasilkan nilai pH terendah hingga 3,59 dan a_w terendah hingga 0,765 yang diperoleh selama 14 hari pertama fermentasi. Penambahan kultur starter *Lactobacillus casei* pada sosis fermentasi dengan waktu pemeraman 28 hari secara signifikan meningkatkan kandungan BAL dan menghambat pertumbuhan kelompok bakteri Enterobacteriaceae seperti *E. coli* dan *Salmonella* sp. Sebaliknya, penambahan metabolit saja tanpa kultur starter BAL tidak efektif dalam menghambat keberadaan *E. coli* dan *Salmonella* sp. pada sosis fermentasi. Sementara itu, kombinasi starter dan metabolit pada sosis fermentasi ikan patin menjadi perlakuan terbaik karena selain dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Salmonella* sp. juga mampu mengakumulasi BAL paling tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan penelitian dan penulisan naskah.

DAFTAR PUSTAKA

Arief, I. I., Jakaria, J., Suryati, T., Wulandari, Z., & Andreas, E. (2013). Isolation and Characterization of Plantaricin Produced by *Lactobacillus plantarum* Strains (IIA-1A5, IIA-1B1, IIA-2B2). *Media Peternakan*, 36, pp. 91–100.

Arief, I. I., Maheswari, R. R. A., Suryati, T., & Rahayu, S. (2010). Kualitas Mikrobiologi Sosis Fermentasi

- Daging Sapi dan Domba yang Menggunakan Kultur Kering *Lactobacillus plantarum* 1B1. *Media Peternakan*, 31(1), pp. 155851.
- Aritonang, S. N., Roza, E., & Sandra, A. (2020). Short communication: Application of bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* SRCM 1 004 34 strain isolated from okara as a natural preservative in beef sausage. *Biodiversitas*, 21(5), 2240–2245.
- Barbosa, A. A. T., Mantovani, H. C., Jain, S. (2017). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(7), 852–864.
- BAM [Bacteriological Analytical Manual]. (2001). Food and Drugs Administration. Chapter 3. Aerobic Plate Count.US
- BSN [Badan Standarisasi Nasional]. (2008). SNI-2897-2008. Metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. Jakarta: BSN.
- BSN [Badan Standarisasi Nasional]. (2013). SNI 7755:2013. Sosis Ikan. Jakarta: BSN
- BSN [Badan Standarisasi Nasional]. (2006). SNI 01-2332.1-2006. Cara uji mikrobiologi - Bagian 1: Penentuan coliform dan *Escherichia coli* pada produk perikanan. Jakarta: BSN
- Cavalheiro, C. P., Ruiz-Capillas, C., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., Pintado, T., de Menezes, C. R., Fries, L. L. M. (2019). Effect of different strategies of *Lactobacillus plantarum* incorporation in chorizo sausages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(15), 6706–6712.
- Cruxen, C. E. dos S., Braun, C. L. K., Fagundes, M. B., Gularte, M. A., Wagner, R., Padilha da Silva, W., Fiorentini, Â. M. (2018). Development of fermented sausage produced with mutton and native starter cultures. *Lwt*, 95, 23–31.
- D'Agostino, M., & Cook, N. (2015). Foodborne Pathogens. *Encyclopedia of Food and Health*, 83–86. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00326-3>
- Desniar. (2012). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Produk Fermentasi Ikan (Bekasam) [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Djamil, M., Utari, H., & Rukmono, D. (2021). Efektivitas *Bacillus* spp. dalam penurunan *off-flavours* pada budidaya ikan patin (*Pangasius* sp.). *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2), 481–498.
- Flores-andrade, E., Pascual-pineda, L. A., & Jim, M. (2015). LWT - Food Science and Technology Effect of water activity on the stability of *Lactobacillus paracasei* capsules, 60, 346–351.
- Flores, M., & Piornos, J. A. (2021). Fermented meat sausages and the challenge of their plant-based alternatives: A comparative review on aroma-related aspects. *Meat Science*, 182.
- Flores, M., & Toldrá, F. (2011). Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science and Technology*, 22(2–3), 81–90.
- Fonseca, S., Cachaldora, A., Gómez, M., Franco, I., & Carballo, J. (2013). Effect of different autochthonous starter cultures on the volatile compounds profile and sensory properties of Galician chorizo, a traditional Spanish dry fermented sausage. *Food Control*, 33(1), 6–14.
- Françoise, L. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27(6), 698–709.
- Graumann, G. H., & Holley, R. A. (2008). Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 in ripening dry fermented sausage by ground yellow mustard. *Journal of Food Protection*, 71(3), 486–493.
- Harmain, R., Hardjito, L., & Zahiruddin, W. (2012). Mutu sosis fermentasi ikan patin (*Pangasius* sp.) Selama penyimpanan suhu ruang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(2), 80–93.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP), 1–12.
- Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Rode, T. M., & Heir, E. (2017). Health and safety considerations of fermented sausages. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Jung, J. H., Shim, K. S., & Shin, D. (2015). Effects of ripening duration and rosemary powder addition on salchichon modified sausage quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(5), 671–676.
- Kim, Y. J., Park, S. Y., Lee, H. C., Yoo, S. S., Oh, S. J., Kim, H. S., & Chin, K. B. (2014). Evaluation of fermented sausages manufactured with reduced-fat and functional starter cultures on physicochemical, functional and flavor characteristics. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(3), 346–354. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.3.346>
- KKP [Kementerian Kelautan dan Perikanan]. 2020. Produksi Perikanan/Kelautan dan Perikanan [internet]. <http://statistik.kkp.go.id/home.php?m=total&i=2> [diakses 16 Maret 2022]
- Kurnianto, Muhammad A, Kusumaningrum, H. D., & Lioe, H. N. (2021). Partial Purification and Characterization of Bacteriocin-Like Inhibitory Substances Produced by *Streptomyces* sp. Isolated from the Gut of *Chanos chanos*, 2021.
- Kurnianto, Muhammad Alfid, Kusumaningrum, H. D., & Lioe, H. N. (2020). Penapisan actinobacteria

- akuatik penghasil antibakteri dari ikan bandeng (*Chanos chanos*) dan belanak (*Mugil cephalus*) dengan metode *double-layer diffusion*. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 15 (1), pp 1-11.
- Kusmajadi, S. (2012). Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Ruang Terhadap Perubahan Nilai pH, TVB dan Total Bakteri Daging Kerbau (Effect of Storage Length in the Room Temperature on pH, TVB, and Total Bacteria Changes of Buffalo Meat). *Jurnal Ilmu Ternak*, 12(2), 9–12.
- Leroy, F., Verluyten, J., & De Vuyst, L. (2006). Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 270–285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027>
- Liu, Y., Wan, Z., Yohannes, K. W., Yu, Q., Yang, Z., Li, H., ... Wang, J. (2021). Functional Characteristics of *Lactobacillus* and Yeast Single Starter Cultures in the Ripening Process of Dry Fermented Sausage. *Frontiers in Microbiology*, 11(January), 1–15.
- Martín, I., Rodríguez, A., Sánchez-Montero, L., Padilla, P., & Córdoba, J. J. (2021). Effect of the dry-cured fermented sausage “salchichón” processing with a selected *Lactobacillus sakei* in *Listeria monocytogenes* and microbial population. *Foods*, 10(4).
- Martin, N. H., Trmcic, A., Hsieh, T. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–8.
- Mendonça, R. C. S., Gouvêa, D. M., Hungaro, H. M., Sodré, A. de F., & Querol-Simon, A. (2013). Dynamics of the yeast flora in artisanal country style and industrial dry cured sausage (yeast in fermented sausage). *Food Control*, 29(1), 143–148.
- Niederhäusern, S. de, Camellini, S., Sabia, C., Iseppi, R., Bondi, M., & Messi, P. (2020). Antilisterial Activity of Bacteriocins Produced by Lactic Bacteria Isolated from Dairy Products. *Foods*, 9(12), 1757.
- Nisa, A. K., & Wardani A. K. (2015). Pengaruh Lama Pengasapan dan Lama Fermentasi Terhadap Sosis Fermentasi Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 567 – 376.
- Noor, Z., Cahyanto, M. N., Indrati, R., & Sardjono, S. (2018). Skrining *Lactobacillus plantarum* Penghasil Asam Laktat untuk Fermentasi Mocaf. *Agritech*, 37(4), 437.
- Ozturk, I., Sagdic, O., & Yetim, H. (2021). Effects of autochthonous yeast cultures on some quality characteristics of traditional turkish fermented sausage “sucuk.” *Food Science of Animal Resources*, 41(2), 196–213.
- Paludan-Müller, C., Madsen, M., Sophanodora, P., Gram, L., & Møller, P. L. (2002). Fermentation and microflora of plaasom, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal of Food Microbiology*, 73(1), 61–70.
- Patrignani, F., Iucci, L., Vallicelli, M., Guerzoni, M. E., Gardini, F., & Lanciotti, R. (2007). Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 1: Evaluation of their effects on microbial evolution, lipolytic and proteolytic patterns. *Meat Science*, 75(4), 676–686.
- Philip, P., Kern, D., Goldmanns, J., Seiler, F., Schulte, A., Habicher, T., & Büchs, J. (2018). Parallel substrate supply and pH stabilization for optimal screening of *E. coli* with the membrane-based fed-batch shake flask. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1–17.
- Pothakos, V., Devlieghere, F., Villani, F., Björkroth, J., & Ercolini, D. (2015). Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat Science*, 109, 66–74.
- Sallan, S., Kaban, G., & Kaya, M. (2022). The effects of nitrite, sodium ascorbate and starter culture on volatile compounds of a semi-dry fermented sausage. *Lwt*, 153(September 2021), 112540.
- Seleshe, S., & Kang, S. N. (2021). Effect of different *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus plantarum* strains on quality characteristics of dry fermented sausage after completion of ripening period. *Food Science of Animal Resources*, 41(4), 636–649.
- Sheoran, P., & Tiwari, S. K. (2019). Anti-staphylococcal activity of bacteriocins of food isolates *Enterococcus hirae* LD3 and *Lactobacillus plantarum* LD4 in pasteurized milk. *3 Biotech*, 9(1), 1–7.
- Sun, Z., Harris, H. M. B., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., ... O'Toole, P. W. (2015). Expanding the biotechnology potential of *Lactobacilli* through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature Communications*, 6.
- Suryaningrum, Muljanah, I., & Tahapari, E. (2010). Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*.
- Suryanti, Syarief, R., Irianto, H., & Sukarno. (2011). Pengaruh pencucian terhadap sifat fungsional daging lumat ikan patin siam (*Pangasius*

- hypophthalmus). *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 6(2), 111–117.
- Toldra. (2007). *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Blackwell Publishing.
- Usan, E., Kiliç, G. B., & Kiliç, B. (2021). Effects of Aloe vera utilization on physicochemical and microbiological properties of Turkish dry fermented sausage. *Journal of Food Science and Technology*.
- Wahyuni, E. A. (2015). The Influence of pH Characteristics on the Occurance of Coliform Bacteria in Madura Strait. *Procedia Environmental Sciences*, 23(Ictcred 2014), 130–135.
- Xu, Y., Zhao, Z., Tong, W., Ding, Y., Liu, B., Shi, Y., ... Zhao, G. (2020). An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*. *Nature Communications*, 11(1), 1–13.
- Yan, X., Yang, L., Zhang, Y., Han, W., & Duan, Y. (2022). Effect of collagen casing on the quality characteristics of fermented sausage. *Plos One*, 17(2), e0263389.
- Yoo, S. A., Na, C. S., Park, S. E., Seo, S. H., & Son, H. S. (2015). Characterization of fermented sausages using *Lactobacillus plantarum* MLK 14-2 as starter culture. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58(3), 349–358.