

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tahu

Tahu merupakan produk makanan yang berasal dari olahan kedelai yang banyak digemari masyarakat. Umumnya pembuatan tahu dilakukan oleh industri kecil atau industri rumah tangga. Hampir di setiap kota di Indonesia dijumpai industri tahu (Yudhistira, Andriani, dan Utami, 2018). Pada prinsipnya pembuatan tahu dibuat dengan mengekstrak protein kemudian mengumpulkannya hingga membentuk padatan protein. Setiap proses pengolahan tahu memerlukan banyak air mulai dari pencucian dan perebusan kedelai. Limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan tahu berupa limbah cair dan limbah padat. Buangan industri tahu mengandung bahan-bahan organik yang sangat tinggi. Bahan organik yang terkandung pada buangan tersebut berupa protein, karbohidrat, lemak dan minyak (Maryana, dkk., 2016).

Pemilihan (penyortiran) bahan baku kedelai merupakan pekerjaan paling awal dalam pembuatan tahu. Kedelai yang baik adalah kedelai yang baru atau belum tersimpan lama digudang. Proses yang kedua adalah perendaman. Pada proses ini kedelai direndam dalam bak atau ember yang berisi air selama \pm 3-12 jam. Setelah kedelai direndam dan dicuci bersih, selanjutnya dilakukan penggilingan. Proses penggilingan dilakukan dengan mesin, karena penggunaan mesin akan memperhalus hasil gilingan kedelai. Hasil dari proses penggilingan berupa bubur kedelai. Proses selanjutnya adalah perebusan bubur kedelai. Dalam keadaan panas, cairan bahan baku tahu (bubur kedelai yang sudah direbus) kemudian disaring dengan kain blaco atau kain moir kasar sambil dibilas dengan

air hangat, sehingga susu kedelai dapat terekstrak keluar semua. Filtrat cair hasil penyaringan yang diperoleh kemudian ditampung dalam bak. Kemudian filtrat yang masih dalam keadaan hangat secara pelan-pelan diaduk sambil diberi asam (catu). Untuk menggumpalkan tahu bisa digunakan bahan-bahan seperti batu tahu (sioko) atau CaSO_4 . Tahap selanjutnya yaitu melakukan pencetakan dan pengepresan (Maryana, dkk., 2016).

B. Limbah Tahu

Limbah tahu adalah bahan atau materi buangan yang timbul akibat kegiatan produksi tahu, yang sudah tidak dimanfaatkan lagi. Limbah padat berupa ampas kedelai. Limbah cair berupa sisa air perendaman, sisa air tahu yang tidak menggumpal, serta limbah berwarna putih kekuningan dan keruh yang apabila dibiarkan akan berubah menjadi hitam dan berbau busuk (Yudhistira, Andriani, dan Utami, 2018). Bahan-bahan yang terdapat dalam limbah cair tahu antara lain protein (40-60%), karbohidrat (25-50%) dan lemak (10%). Limbah cair tahu dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai substrat pertumbuhan mikroba seperti dalam pembuatan produk protein sel tunggal (Maryana, dkk., 2016).

Pada umumnya limbah padat tahu dapat dimanfaatkan untuk makanan ternak. Sedangkan, limbah tahu yang berbentuk cair dibuang ke perairan sehingga mengakibatkan dampak buruk bagi kualitas air yaitu mengakibatkan bau busuk pada sungai atau tempat disekitar pembuangan limbah cair tahu tersebut. Keberadaan limbah cair dapat memberikan nilai negatif terhadap suatu kegiatan industri. Namun limbah cair tahu juga dapat memberikan nilai positif jika dapat memaksimalkan berbagai potensi yang ada pada limbah cair industri serta melakukan penanganan dengan teknologi yang tepat. Pengelolaan limbah dalam

industri pembuatan tahu merupakan salah satu dari contoh teknik pengelolaan limbah secara *waste to product* yaitu menggunakan kembali limbah industri tahu sebagai bahan baku produk baru yang memiliki nilai tambah (Yudhistira, Andriani, dan Utami, 2018).

Limbah cair yang dihasilkan pada industri tahu ini akan mengalami proses yang dilakukan oleh mikrobia (secara spontan) selama pembuangan. Hal ini terjadi dengan jalan menghidrolisis zat organik, seperti protein, karbohidrat, dan lemak yang masih terkandung dalam limbah cair tahu. Tahap ini disebut dengan tahap hidrolisis. Tahapan selanjutnya yaitu tahap asidifikasi atau pengasaman yaitu proses pembentukan asam-asam organik dari zat organik yang telah dihidrolisis pada tahap sebelumnya. Tahapan terakhir yaitu tahap pembentukan biogas hasil biokonversi dari asam organik yang dihasilkan. Sehingga diperlukan karakterisasi limbah cair tahu dengan perbedaan proses pembuatan tersebut. Salah satu karakterisasi yang dapat dilakukan diantaranya yaitu dengan kinetika pertumbuhan mikrobia pada limbah cair tahu untuk menghasilkan asam. Limbah cair tahu dapat digunakan sebagai media pertumbuhan BAL. Limbahtahu mengandung senyawa-senyawa organik, seperti N-organik, gula total, gula, dan mineral. Kandungan protein dari limbah cair tahu dengan penambahan sumber nitrogen dan sumber karbon diharapkan dapat menjadi media tumbuh yang baik untuk bakteri. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan BAL (Yeni, 2016).

C. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu organisme yang memfermentasi bahan pangan melalui fermentasi karbohidrat dan umumnya menghasilkan sejumlah besar asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) membutuhkan asam amino dan vitamin B untuk dapat tumbuh. Beberapa BAL dapat hidup pada suhu 5°C-4°C. Kebanyakan BAL tumbuh pada lingkungan dengan pH 4,0-4,5 (Yuliana, 2008).

Bakteri Asam Laktat (BAL) berdasarkan habitat aslinya secara umum dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu bakteri asam laktat yang berasal dari tanaman (fermentasi nabati) dan BAL yang berasal dari susu (*dairy product*). Pada kelompok BAL yang berasal dari fermentasi kedelai (tauco, tahu, tempe) dan yang lainnya. Sedangkan kelompok bakteri yang berasal dari susu biasanya terdapat pada beberapa produk fermentasi susu. Pangan yang diperoleh dari proses fermentasi banyak berasal dari biji-bijian, salah satu diantaranya adalah kacang kedelai yang banyak digunakan sebagai bahan dasar dari pangan fermentasi seperti salah satunya yaitu tahu makanan tradisional khas Indonesia (Subagiyo, dkk., 2015).

1. Morfologi

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri probiotik bersifat non patogen, menghasilkan asam laktat, kelompok jenis bakteri Gram positif, berbentuk *coccus* (bulat), atau *bacillus* (batang), tidak membentuk spora, katalase negatif dan oksidase positif, proses fermentasi menghasilkan asam laktat. BAL mempunyai kemampuan memfermentasikan gula menjadi asam laktat, karena produksi asam laktat oleh BAL berjalan dengan cepat, maka pertumbuhan

mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat (Putri dkk., 2018). Berdasarkan tipe fermentasi, BAL dikelompokkan menjadi 2, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Kelompok berdasarkan dari homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi gula. Kelompok *homofermentatif* selama metabolisme sel yang difermentasi adalah gula pentosa dan yang dihasilkan adalah asam laktat dan asam asetat. Bakteri asam laktat (BAL) homofermentative membentuk 90% atau lebih asam laktat murni. Bakteri asam laktat (BAL) *homofermentatif* sering digunakan dalam pengawetan makanan, karena produksi asam laktat dalam jumlah tinggi dalam makanan sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain yang dapat merusak makanan (Januarsyah, 2007).

2. Klasifikasi

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. BAL termasuk dalam filum *Firmicutes*, kelas Bacilli, dan ordo *Lactobacillales* berupa family yang berbeda yaitu *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Leuconostocaceae*, *Aerococcaceae*, *Camobacteriaceae*, dan *Enterococcaceae* (Putri dkk., 2018).

a. *Lactobacillaceae*

Lactobacillaceae adalah bakteri gram positif. Pertumbuhan yang optimum berada pada kisaran pH4-8 dan suhu 2°C sampai 53°C. *Lactobacillus* terdiri dari dua genus dan yang umum dijumpai yaitu *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. *Lactobacillus* adalah bakteri Gram positif, katalase negatif dan umumnya *homofermentatif* atau *heterofermentatif*.

b. *Streptococcaceae*

Streptococcaceae termasuk dalam bakteri gram positif, katalase negative, dan tidak membentuk spora. *Streptococcaceae* terdiri dari tiga genus yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus* dan *Lactovum*. *Streptococcus* adalah bakteri Gram positif, katalase negatif dan umumnya *homofermentatif*.

c. *Leuconostocnoscaceae*

Leuconostocnoscaceae adalah termasuk ke dalam bakteri gram positif, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan tipe fermentasi yaitu heterofermentatif. *Leuconostoc* terdiri dari empat genus yaitu *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* dan *Weissella*. Karakteristik dari family ini hampir sama dengan *Lactobacillus*. Bentuk dari genus *Leuconostoc* dan *Oenococcus* menunjukkan morfologi bentuk oval, genus *Fructobacillus* berbentuk batang, dan termasuk *heterofermentatif*.

d. *Aerococcaceae*

Aerococcaceae adalah bakteri gram positif, non motil, berbentuk oval dengan diameter 1-2 μm , sel tersusun bergerombol dan tidak membentuk spora. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif, tidak membentuk gas pada media MRS broth serta dapat tumbuh di media yang mengandung NaCl.

e. *Carnobacteriaceae*

Carnobacteriaceae adalah bakteri gram positif, tidak membentuk spora serta berbentuk batang atau kokus. Secara umum *Carnobacteriaceae* bersifat anaerob fakultatif, namun beberapa spesies tumbuh secara aerob atau dalam kondisi mikroaerofilik, katalase negatif.

f. *Enterococcaceae*

Enterococcaceae adalah bakteri gram positif berbentuk kokus yang tersusun berpasangan atau rantai pendek, katalase negative, anaerbo fakultatif, dan homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk akhir utama dari proses fermentasi.

3. Manfaat Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk golongan mikroorganisme yang aman ditambahkan pada makanan karena tidak menghasilkan toksin dan dikenal dengan sebutan *food grade microorganism* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan. Bakteri asam laktat (BAL) dalam industri pengolahan pangan telah digunakan sebagai kultur starter untuk berbagai ragam fermentasi daging, susu dan sayur-sayuran. Peranan BAL adalah untuk memperbaiki citarasa produk fermentasi dan juga mempunyai efek pengawetan (Afriani, 2017).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang memiliki kontribusi besar dalam dunia pangan. Bakteri asam laktat (BAL) selain digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi. Penggunaan BAL sebagai pengawet alami dengan metode biopreservatif telah banyak dikembangkan dengan menggunakan BAL secara langsung atau menggunakan metabolitnya sebagai agen antimikroba (Ibrahim, 2015).

Metabolit yang dihasilkan oleh BAL merupakan agen yang dapat digunakan dalam membunuh bakteri. Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh BAL yaitu asam laktat, etanol, hidropersida dan bakteriosin (Ibrahim, 2015). Asam

laktat yang diproduksi oleh BAL dapat menurunkan pH lingkungan karena pH yang rendah dapat menghambat kontaminasi mikroba pembusuk dan membunuh mikroba patogen terutama yang ada di dalam tubuh. Bakteri asam laktat (BAL) bermanfaat untuk merangsang sistem kekebalan dan resistensi terhadap infeksi dan kanker (Lawalata dkk., 2010).

Bakteri asam laktat (BAL) juga mulai banyak digunakan sebagai minuman probiotik yakni suplemen dalam bentuk mikroba hidup yang menguntungkan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan (Ibrahim, 2015).

4. Faktor Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Proses fermentasi berhubungan dengan proses pertumbuhan serta produksi zat antimikroba oleh bakteri asam laktat (Khumalawati, 2009). Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan asam laktat diantaranya :

a. Suhu

Suhu merupakan suatu yang penting dalam kehidupan. Beberapa jenis mikroba dapat hidup pada suhu tertentu oleh karena itu suhu adalah salah satu faktor lingkungan yang berperan dalam kecepatan pertumbuhan mikroba (Waluyo, 2016). Bakteri psikofilik tumbuh pada suhu rendah yaitu pada suhu -5°C sampai 15°C dengan suhu optimum antara 20°C dan 30°C tetapi tumbuh dengan baik pada suhu yang lebih rendah. Bakteri termofilik tumbuh paling baik pada suhu 50°C - 60°C . Sebagian besar bakteri asam laktat tumbuh dengan baik pada suhu 30°C - 37°C dan suhu optimum 40°C karena merupakan sebagian besar bakteri mesofilik (Yelti dkk., 2014).

b. Karbohidrat

Karbohidrat sangat penting bagi BAL sebagai energi dalam masa pertumbuhannya. Karbohidrat tersebut selama proses fermentasi akan diuraikan menjadi senyawa yang sederhana seperti asam laktat ataupun etanol. BAL memerlukan media dalam pertumbuhannya. Media yang sesuai akan membuat bakteri asam laktat akan terus menerus tumbuh dan menghasilkan asam (Maczulak, 2011).

c. Derajat keasaman (pH)

Pertumbuhan bakteri berhubungan dengan aktivitas enzim untuk mengkatalis reaksi yang dilakukan selama pertumbuhan bakteri. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5. Umumnya pH untuk pertumbuhan bakteri adalah 4 dan 9. Jika pH pertumbuhan bakteri tidak optimum akan mengakibatkan terganggunya pertumbuhan bakteri (Yelti dkk., 2014).

D. Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) telah lama dikembangkan sebagai probiotik (Subagiyo dkk., 2015). Bakteri probiotik atau bakteri baik adalah BAL yang hidup di dalam usus, bersimbiosis dengan mikroflora usus yang mampu melawan bakteri patogen di dalam usus, oleh karena itu pemberian probiotik dapat berpengaruh menguntungkan bagi kesehatan. Bakteri asam laktat (BAL) berperan dalam proses fermentasi makanan maupun minuman. Produk fermentasi memiliki nilai gizi lebih tinggi dibandingkan dengan bahan asalnya, karena mikroba yang terdapat pada produk fermentasi dapat memecah komponen kompleks menjadi bahan yang lebih sederhana sehingga mudah dicerna. Fermentasi dikenal sebagai

salah satu cara pengawetan makanan tertua di dunia. Pengawetan makanan melalui fermentasi pada bahan mentah telah digunakan sejak sekitar zaman Neolitik (sekitar 1000 tahun SM) (Putri dkk., 2018).

Dalam industri pangan bakteri asam laktat telah digunakan secara luas sebagai kultur starter untuk berbagai ragam fermentasi daging, susu, sayuran dan rerotian atau bakeri. Adanya penambahan BAL pada produk pangan akan menurunkan pH substrat sehingga bakteri perusak dan patogen akan terhambat pertumbuhannya, sehingga tidak menutup kemungkinan bahwa penambahan bakteri tersebut dengan berbagai konsentrasi pada mayones akan memberikan daya awet yang baik (Putri dkk., 2018).

Pada saat ini banyak penelitian terhadap bakteri patogen yang membuktikan bahwa BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga tubuh lebih mudah menjaga kesehatannya. Saat ini juga telah banyak beredar di pasaran dengan berbagai merk dan jenis produk kesehatan yang di dalamnya terkandung *strain* BAL. Produk-produk tersebut berperan dalam melindungi sistem pencernaan dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab infeksi saluran pencernaan. Produk yang umum dikonsumsi oleh masyarakat adalah yoghurt. Jenis mikroba yang berperan penting dalam fermentasi susu adalah kelompok BAL (Khikmah, 2015). Industri yogurt saat ini berkembang cukup pesat, hal ini dapat dilihat dari banyaknya jenis yogurt yang kini dikenal. Yogurt juga digunakan sebagai minuman untuk tujuan diet dan pengobatan. Hal inilah yang membuat yogurt disukai oleh konsumen dari berbagai kalangan. Inovasi yogurt yang berkembang saat ini yaitu menambahkan variasi bakteri probiotik. Probiotik yaitu bakteri hidup yang dimasukkan ke dalam

tubuh secara oral dan dapat bertahan hidup sampai usus manusia. Adanya peranan probiotik dapat menjaga kesehatan saluran pencernaan dengan menjaga keseimbangan mikroflora usus (Jannah dkk., 2014). Menurut Kuswiyanto (2016) bakteri yang berperan dalam proses pembuatan yogurt juga dapat menghasilkan zat penghambat HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) sehingga bakteri ini menjadi alternatif untuk pengobatan HIV. Selain itu peran lainnya dari BAL adalah mampu menurunkan kadar kolesterol (Kuwisyanto, 2016).

E. Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi merupakan semua aktivitas yang dilakukan dalam mikrobiologi untuk menentukan famili, genus atau specimen dari mikroorganisme yang tidak diketahui. Karakterisasi isolat meliputi morfologi, fisiologi, dan biokimia. Karakterisasi morfologi terdiri dari pewarnaan Gram dan uji biokimia. Uji biokimia yang dilakukan yaitu uji katalase dan produksi gas dari glukosa (Amaliah, Bahri, dan Amelia, 2018) :

1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dikelompokkan menjadi dua bakteri yaitu Bakteri Gram positif dan Bakteri Gram negatif. Pengelompokan ini didasari oleh kemampuan bakteri mempertahankan kompleks kristal violet atau safranin sesudah dicuci dengan alkohol. Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna dari kristal violet sedangkan bakteri Gram negatif tidak mempertahankan kompleks kristal violet melainkan mempertahankan safranin bakteri Gram positif akan berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah.

2. Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena H_2O_2 yang dibentuk dengan pertolongan berbagai enzim pernafasan bersifat racun terhadap sel mikroba.

Keberadaan H_2O_2 pertama kali dideteksi pada kultur *Pneumococcus*, sebuah organisme yang tidak memproduksi katalase dan sedikit sensitif terhadap peroksida. Organisme yang tidak memproduksi katalase dilindungi oleh penanaman dengan jaringan hewan atau tumbuhan atau organisme lain yang mempunyai kemampuan memproduksi enzim. Katalase diproduksi oleh beberapa bakteri. Beberapa bakteri diantaranya memproduksi katalase lebih banyak daripada yang lain. Ini ditunjukkan dengan jumlah yang banyak pada bakteri aerob. Sedangkan enzim tidak diproduksi oleh bakteri anaerob obligat karena mereka tidak memerlukan enzim tidak diproduksi oleh bakteri anaerob obligat karena mereka tidak memerlukan enzim tersebut. Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan (Lebofee and Pierce, 2011).

3. Uji fermentasi dari glukosa

Bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk memproduksi gas dari glukosa yang digunakan untuk membedakan tipe fermentasi yang terjadi yakni homofermentatif dan heterofermentatif. *Heterofermentatif* didasarkan dari jalur yaitu *6-fosfoglukonat* dengan menghasilkan zat lain selain asam laktat seperti CO₂ (karbondioksida) dan etanol atau asam asetat. *Homofermentatif* didasarkan pada jalur glikolisis dan hanya menghasilkan asam laktat sebagai produksi akhir. Karbondioksida yang diproduksi, dikatalis oleh *6-fosfoglukonat* dehidrogenase yaitu enzim yang ada dalam jalur *6-6-fosfoglukonat* (Lahtinen, Ouwehand, and Salminen, 2012).

Secara umum bakteri memfermentasi beberapa karbohidrat tertentu dan penting dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri. Media gula-gula merupakan salah satu media untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Salah satu media gula-gula adalah media glukosa. Pada pembuatan media glukosa akan dilengkapi dengan tabung Durham. Tabung ini diletakkan terbalik untuk mengetahui adanya produksi gas sebagai hasil dari proses fermentasi.