

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses menghancurkan atau memusnahkan semua mikroorganisme termasuk spora, dari sebuah benda atau lingkungan. Peranan sterilisasi pada pembuatan makanan yaitu berfungsi untuk menjamin keamanan terhadap pencemaran oleh mikroorganisme dan memperpanjang waktu simpan (Purnawijayanti, 2001). Prinsip dasar sterilisasi yaitu memperpanjang umur simpan bahan pangan dengan cara membunuh mikroorganisme yang ada di dalamnya. Mikroorganisme yang tumbuh pada produk pangan biasanya dapat mencemari produk pangan dan membuat makanan lebih cepat basi. Mikroorganisme pembusuk tersebut bisa berupa bakteri, khamir (yeast) dan kapang (jamur) (Hiasinta, 2001).

2.1.1 Sterilisasi Secara Fisik

Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & pemijaran.

1. Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat : jarum inokulum, pinset, batang L dan lain-lain.
2. Sterilisasi panas kering : sterilisasi dengan oven umumnya pada suhu 160-170⁰C selama 1-2 jam. Sterilisasi panas kering cocok untuk sterilisasi serbuk yang tidak stabil terhadap uap air, alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi dan lain-lain. Sterilisasi uap panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Sterilisasi dengan

menggunakan uap panas dibawah tekanan dengan menggunakan autoklaf. Pada sterilisasi ini umumnya dilakukan dalam uap jenuh dalam waktu 15 menit dengan suhu 121⁰C.

2.1.2 Sterilisasi Kimia

Biasanya sterilisasi secara kimiawi menggunakan senyawa desinfektan antara lain alkohol. Antiseptik kimia biasanya dipergunakan dan dibiarkan menguap seperti halnya alkohol. Proses sterilisasi antiseptik kimia ini biasanya dilakukan dengan cara langsung memberikan pada alat atau media yang akan disterilisasi. Pemilihan antiseptik terutama tergantung pada kebutuhan dari tujuan tertentu serta efek yang dikehendaki.

2.1.3 Sterilisasi Mekanik (Filtrasi)

Sterilisasi secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22 mikron atau 0.45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misalnya larutan serum, enzim, toksin kuman, ekstrak sel dan lain-lain. (Fauzi, 2013)

2.2 Autoclave

Autoklaf merupakan salah satu alat dalam teknik sterilisasi panas. Autoklaf adalah alat pemanas tertutup yang fungsinya untuk mensterilkan suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi biasanya suhu yang digunakan 121⁰C dan bertekanan 15 kg/cm² yang dilakukan selama kurang lebih 15 menit. Penurunan tekanan pada autoklaf tidak dimaksudkan untuk membunuh

mikroorganisme, melainkan meningkatkan suhu dalam autoklaf. Suhu yang tinggi inilah yang akan membunuh mikroorganisme. Autoklaf ditujukan untuk membunuh endospora, yaitu sel resisten yang diproduksi oleh bakteri, sel ini tahan terhadap pemanasan, kekeringan, dan antibiotik. Pada spesies yang sama, endospora dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang dapat membunuh sel vegetatif bakteri tersebut. Endospora dapat dibunuh pada suhu 100°C, yang merupakan titik didih air pada tekanan atmosfer normal. Pada suhu 121°C, endospora dapat dibunuh dalam waktu 4-5 menit, dimana sel vegetatif bakteri dapat dibunuh hanya dalam waktu 6-30 detik pada suhu 65°C (Nurhabibah Hasibuan, 2014). Prinsip kerja autoklaf yaitu mensterilkan bahan dengan menggunakan tekanan uap optimum untuk sterilisasi pada suhu 121°C dan tekanan 15 kg/cm². Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoklaf lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoklaf. Setelah semua udara dalam autoklaf diganti dengan uap air, katup uap/udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoklaf naik. Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai, maka proses sterilisasi dimulai dan timer mulai menghitung waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas dimatikan dan tunggu tekanan dalam kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada pressure gauge menunjuk ke angka nol). (Fitri Rahmayanti, 2013)



Gambar 1. Autoclave

Autoklaf yang dapat digunakan untuk sterilisasi ada bermacam-macam, mulai dari yang sederhana sampai digital (terprogram). Autoklaf yang sederhana menggunakan sumber uap dari pemanasan air yang ditambahkan ke dalam autoklaf. Pemanasan air dapat menggunakan kompor atau api Bunsen. Pada autoklaf sederhana ini, tekanan dan temperatur diatur dengan jumlah panas dari api. Kelemahan autoklaf ini adalah bahwa perlu penjagaan dan pengaturan panas secara manual, selama masa sterilisasi dilakukan. Keuntungan autoklaf ini adalah sederhana, harga relatif murah, tidak tergantung dari aliran listrik yang sering merupakan problema pada negara-negara yang sedang berkembang, serta lebih cepat dari autoklaf listrik yang seukuran dan setaraf. (Dwijosaputro, 2009)

Autoklaf yang bertipe yang lebih canggih menggunakan sumber energi dari listrik. Alatnya dilengkapi dengan timer dan thermostat. Bila pengatur otomatis ini berjalan dengan baik, maka autoklaf dapat dijalankan sambil

mengerjakan pekerjaan lain. Kelemahan dari autoklaf ini adalah bila salah satu pengatur tidak bekerja, maka pekerjaan persiapan media menjadi sia-sia dan kemungkinan menyebabkan kerusakan total pada autoklaf. (Mulyaningsih dan Alluh, 2009).

Keunggulan autoklaf adalah dapat mensterilkan alat dan bahan hingga tidak ada organisme yang hidup lagi. Autoklaf memerlukan waktu yang singkat untuk sterilisasi. Autoklaf menggunakan suhu dan tekanan tinggi sehingga memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibandingkan dengan udara panas biasa. Autoklaf memiliki kelebihan yaitu alat perebus yang bertekanan tinggi. (Permatasari dkk., 2013).

Kekurangan autoklaf adalah harus menggunakan air mendidih karena uapnya memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Autoklaf membutuhkan sumber panas yang terus menerus. Autoklaf membutuhkan peralatan yang butuh perawatan terus menerus (fardias, 1992).

2.2.1 Jenis autoklaf

Perbedaan jenis autoklaf yaitu terletak pada bagaimana udara dihilangkan dari dalam autoklaf selama sterilisasi. Adapun jenis-jenis autoklaf yaitu :

1.Gravity Displacement Autoclave

Udara dari dalam autoklaf dipindahkan hanya berdasarkan gravitasi. Prinsipnya adalah memanfaatkan keringanan uap dibandingkan dengan udara, sehingga udara terletak dibawah uap. Cara kerjanya dimulai dengan memasukkan uap melalui bagian atas autoklaf sehingga udara tertekan ke

bawah. Secara perlahan, uap mulai semakin banyak sehingga menekan udara semakin turun dan keluar melalui saluran di bagian bawah autoklaf, selanjutnya suhu meningkat dan terjadilah sterilisasi. Autoklaf ini dapat bekerja dengan cakupan suhu antara 121-134°C dengan waktu 10-30 menit.

2. High Vacuum

Autoklaf ini dilengkapi dengan pompa yang mengevakuasi hampir semua udara dari dalam autoklaf. Cara kerjanya dimulai dengan pengeluaran udara. Proses ini berlangsung selama 8-10 menit. Ketika keadaan vakum tercipta, uap dimasukkan ke dalam autoklaf. Akibat kevakuman udara, uap segera berhubungan dengan seluruh permukaan benda, kemudian terjadi peningkatan suhu sehingga proses sterilisasi berlangsung. Autoklaf ini bekerja pada suhu 132-135°C dengan waktu 3-4 menit.

3. Steam-flush pressure-pulse

Autoklaf ini menggunakan aliran uap dan dorongan tekanan atmosfer dengan rangkaian berulang. Waktu siklus pada autoklaf ini tergantung pada benda yang disterilisasi. (Ditya Fahlevi, 2014)

2.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki dengan menggunakan bantuan mikroba. Produk-produk tersebut biasanya dimanfaatkan sebagai minuman atau makanan. Fermentasi terbagi menjadi dua, yaitu fermentasi spontan dan tidak spontan (membutuhkan starter). Fermentasi spontan adalah fermentasi yang biasa dilakukan menggunakan media penyeleksi, seperti garam, asam organik, asam

mineral, nasi atau pati. Media penyeleksi tersebut akan menyeleksi bakteri patogen dan menjadi media yang baik bagi tumbuh kembang bakteri selektif yang membantu jalannya fermentasi. Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang dilakukan dengan penambahan kultur organisme bersama media penyeleksi sehingga proses fermentasi dapat berlangsung lebih cepat (YS Rejeki, 2011). Prinsip dari sebuah fermentasi adalah memperbanyak jumlah mikroorganisme dan meningkatkan metabolismenya dalam bahan pangan. (Raudhatul Ulfa, 2013).

Beberapa manfaat dari proses fermentasi adalah pH semakin rendah, meningkatkan keamanan pangan, pengawet makanan zat-zat metabolit yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga waktu simpan bertambah, penganekaragaman pangan, menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, meningkatkan nilai gizi makanan, menambah cita rasa pada makanan, tekstur makanan menjadi lebih baik, dan menurunkan zat anti nutrisi (Retno I Pujaningsih, 2005).

2.4 Coklat Bubuk



Gambar 2. Coklat Bubuk

Coklat bubuk terbuat dari bungkil/ampas biji coklat yang telah dipisahkan lemak coklatnya. Bungkil ini dikeringkan dan digiling halus sehingga terbentuk tepung coklat. Coklat bubuk ada 2 jenis, yang pertama melalui proses natural dan yang kedua melalui proses dutch. Cocoa natural sedikit asam, sedangkan cocoa dutch warnanya lebih gelap dan coklatnya lebih lembut dan biasanya bahan yang melalui proses dutch digunakan untuk membuat minuman cokelat panas karena aromanya lebih lembut. Coklat bubuk natural dibuat dari bubuk coklat atau balok coklat pahit, dengan menghilangkan sebagian besar lemaknya hingga tinggal 18-23%. Coklat jenis ini berbentuk tepung, mengandung sedikit lemak, dan rasanya pahit. Banyak sekali yang menggunakan coklat bubuk jenis ini sebagai bahan campuran untuk membuat kue dan minuman (Yayuk Sriwahyuni, 2015). Cokelat bubuk berdasarkan kadar lemak yang dikandungnya dibedakan menjadi 3 yaitu :

1. Cokelat bubuk yang rendah lemak (sebagian besar lemaknya telah dihilangkan, kandungan lemak 10%-12%).
2. Cokelat bubuk dengan kadar lemak sedang (kandungan lemak sekitar 12% - 17%).
3. Cokelat bubuk untuk minuman atau sarapan (kadar lemak cokelat 17%-22% terkadang diatas 22%) (Juniaty Towaha, 2012).

Komposisi kimia bubuk kakao berbeda dengan mentega kakao dan pasta coklat. Komposisi kimia bubuk kakao (natural) per 100 gram adalah mengandung kalori 228,49 Kkal, lemak 13,5 g, karbohidrat 53,35 g, serat 27,90 g, protein 19,59 g, air 2,58 g, dan kadar abu 6,33, yang meliputi : kalium 1495,5 mg, natrium 8,99 mg, kalsium 169,45 mg, besi 13,86 mg, seng 7,93 mg, tembaga 4,61 mg, dan mangan 4,73 mg (FE Djangoen, 2013).

2.4.1 Manfaat Coklat

Para ahli patologi menemukan banyak manfaat yang bisa diambil dari coklat. Cokelat terbuat dari biji kakao yang kaya akan senyawa bernama flavonoid yang juga terdapat pada daun teh. Sampai saat ini, lebih dari 4000 macam flavonoid yang telah diidentifikasi. Tumbuh-tumbuhan mensintesis senyawa yang dapat larut dalam air ini dari asam amino phenylalanine dan asetat. Flavonoid berperan sebagai antioksidan, menetralkan efek-efek buruk dari radikal bebas yang dapat menghancurkan sel-sel dan jaringan-jaringan tubuh. Satu setengah ons batang coklat hitam memiliki sekira 800 miligram antioksidan, setara dengan secangkir teh hitam.

Temuan baru menunjukkan bahwa flavonoid dan senyawa-senyawa tersebut penting bagi kesehatan. Selain flavonoid, coklat mengandung theobromine, senyawa alkaloid bersifat stimultan ringan yang dapat menstimulasi sel saraf sehingga menimbulkan perasaan bersemangat dan segar. Selain sebagai stimultan, theobromine dipercaya memiliki mood elevating effects.

Senyawa ini mendorong tubuh mengeluarkan senyawa lain yang dapat menimbulkan perasaan nyaman dan secara ringan mengurangi stres. Banyak orang, terutama wanita, mengonsumsi coklat untuk tujuan ini. Setelah mengonsumsi cukup banyak coklat, mereka akan merasa lebih tenang. (Jurnal *Pediatri*, 2014)

2.5 Laktosa

Laktosa merupakan karbohidrat dari golongan disakarida yang tersusun dari 2 molekul monosakarida terhubung oleh ikatan glikosida. Laktosa adalah

jenis gula yang ditemukan dalam susu dan produk susu (keju, mentega, dll). Gula ini dianggap sebagai pemanis nutritif karena memiliki kalori. Laktosa memberi manfaat bagi tubuh yaitu sebagai sumber energi yang memasok hampir setengah keseluruhan kalori dalam susu (35-45%). Disamping itu laktosa juga penting untuk absorpsi kalsium. Memberikan efek positif terhadap fisiologi usus, termasuk efek prebiotik, melunakan kotoran dan membantu mengikat air (Ahmad Riduan, 2014).

2.6 Lactobacillus Bulgaricus

Lactobacillus bulgaricus adalah berantai, tidak berspora, tidak berflagel, bergranulasi dengan pewarnaan methylen blue, bersifat homofermentatif yaitu produk akhir dari metabolisme karbohidrat adalah asam laktat, mikroaerofilik, tidak mencerna kasein, tidak memproduksi indol dan H₂S, tidak memproduksi enzim katalase, kadang-kadang memproduksi pigmen kuning sampai orange dan tidak patogen (Agnes Titah M, dkk., 2014). *Lactobacillus bulgaricus* secara luas digunakan dalam produksi produk susu fermentasi seperti yoghurt, keju, krim dan coklat disebabkan sifat-sifatnya yang menguntungkan secara teknologi, nutrisi dan khususnya terhadap kesehatan.

Lactobacillus bulgaricus adalah bakteri berbentuk batang, berantai, tidak berspora, tidak berflagel, Gram positif, bergranulasi dengan pewarnaan methylen blue, bersifat homofermentatif yaitu produk akhir dari metabolisme karbohidrat adalah asam laktat, mikroaerofilik, tidak mencerna kasein, tidak memproduksi indol dan H₂S, tidak memproduksi enzim katalase, kadang-kadang memproduksi pigmen kuning sampai orange dan tidak patogen. Kondisi optimum pertumbuhan *L. bulgaricus* adalah antara 30 – 40°C, dengan pH optimal antara 5,5 – 6,2 tetapi

tumbuh pada pH 5 atau kurang, dan laju pertumbuhan berkurang pada pH netral atau alkali. (Agrotekno, 2015).

Klasifikasi ilmiah *Lactobacillus bulgaricus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokariotik
Divisio : Schizophyta
Kelas : Eubacteriales
Familia : Lactobacillaceae
Genus : *Lactobacillus*
Spesies : *Lactobacillus bulgaricus*

(Titisingtyas, 2012)