

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perisa dan aroma merupakan hal penting yang semakin dikembangkan dan dicari secara luas di industri makanan, kosmetik, kimia, dan farmasi. Banyak senyawa perisa dan aroma yang ada di pasaran masih diproduksi melalui sintesis kimiawi atau melalui ekstraksi dari sumber tanaman dan hewan. Saat ini banyak industri yang mulai mempertimbangkan penggunaan senyawa perisa yang lebih alami dan berkelanjutan yang berasal dari produksi mikroorganisme sebagai sintesis *bioflavor* dan *fragrance* telah banyak diteliti. Alasan utamanya yaitu produksi senyawa perisa dan aroma secara kimiawi sering kali menghasilkan proses produksi yang tidak ramah lingkungan dan menghasilkan senyawa sekunder yang tidak diinginkan. Meningkatnya permintaan dari konsumen yang menolak senyawa kimia atau senyawa sintetis yang identik dengan produk alami, terutama jika dikaitkan dengan makanan dan produk yang dikonsumsi secara terus menerus. Menurut Güneşer et al. (2015) *bioflavors* adalah senyawa perisa dan aroma alami yang diproduksi menggunakan jalur metabolisme mikroba atau sel tanaman atau sistem enzimnya dengan pendekatan bioteknologi. Seiring berkembangnya zaman, konsumen tidak hanya mencari nilai gizi tetapi juga menginginkan rasa dan aroma yang menarik dan menyegarkan pada makanan secara alami. Secara tradisional, industri makanan mengandalkan bahan penyedap sintetis, tetapi ada permintaan yang terus meningkat untuk alternatif yang alami dan berkelanjutan.

Seiring perkembangan industri pangan yang semakin maju, rasa dan aroma memainkan peran penting terutama di pasaran. Berdasarkan data dari Hosoglu et al. (2018) pasar perisa dan aroma secara global diperkirakan mencapai sekitar US\$ 24,7 miliar pada tahun 2015. Pada tahun 2019, penjualan global senyawa aroma dan rasa mencapai sekitar US\$ 5,5 miliar (Laporan analisis pasar, 2020). Konsumsi yang lebih tinggi dari perisa dan aroma diamati di Asia-Pasifik, Amerika Utara, Eropa Barat, dan negara bagian yang ada di Amerika. Tingginya permintaan senyawa perisa dari pasar global telah menunjukkan industri makanan yang semakin membutuhkan produksi senyawa perisa. Secara tradisional, molekul-molekul perisa dapat diproduksi secara sintesis kimiawi atau diekstraksi langsung dari tanaman. Selama beberapa dekade terakhir, permintaan konsumen akan bahan makanan alami telah mendorong minat yang luas dalam pengembangan alternatif untuk memproduksi penyedap rasa dan aroma alami memanfaatkan bioteknologi.

Proses sintesis *bioflavors* memanfaatkan mikroba yang berkelanjutan dan kompetitif secara ekonomi, penggunaan substrat yang mahal, produktivitas yang rendah, serta biaya pra-perlakuan dan pemrosesan hilir yang tinggi harus diatasi. Perkembangan proses sintesis perisa dan wewangian telah mengarah pada eksplorasi bioprospeksi mikroba sebagai sarana untuk menghasilkan rasa alami dengan lebih aman dan ramah lingkungan. Mikroorganisme, termasuk bakteri, ragi, dan jamur, berlimpah di berbagai lingkungan, seperti tanah, air, dan tanaman. Salah satu sumber berbagai isolat mikroba yang merupakan produk

pangan tradisional Indonesia berasal dari beras ketan. Bioprospeksi mikroba yang diisolasi dari fermentasi beras ketan dalam mensintesis senyawa aromatik. Fermentasi tape ketan merupakan produk bioteknologi tradisional yang juga adalah produk pangan tradisional yang cukup populer di Indonesia. Proses fermentasi yang terjadi pada tape ketan ini bergantung pada mikroorganisme alami untuk mengubah beras mentah menjadi makanan yang berasa, beraroma, dan bergizi. Fermentasi tape ketan terjadi dengan adanya aktivitas dari berbagai macam kapang termasuk *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae*, *Amylomyces rouxii* atau spesies *Mucor*, dan khamir termasuk *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Saccharomycopsis fibuliger*, *Endomycopsis burtonii*, dan lainnya, serta bakteri asam laktat, termasuk *Lactobacillus curvatus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*, dan *Weissella confusa*, *W.* Sedikit berbeda dengan fermentasi tape, fermentasi ketan secara spontan tidak didominasi oleh bakteri asam laktat. Mikroba yang tumbuh di fermentasi ketan secara spontan umumnya adalah bakteri gram negatif, yeast dan sedikit BAL. Salah satu aspek yang menarik dari fermentasi ini terletak pada potensi mikroba untuk mensintesis *bioflavor* yang unik, yang meningkatkan atribut sensorik produk akhir terutama rasa dan aroma.

Potensi yang ditunjukkan oleh mikroba untuk memproduksi *frangrances* memang menjanjikan, tetapi tidak semua mikroba dapat mensintesis *frangrances* secara optimal. Penelitian untuk menemukan mikroba sintesis bioflavors yang paling optimal perlu dilakukan dengan menskrining isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa volatil

*fragrances*. Skrining untuk mikroba sintesis *fragrances* melibatkan proses sistematis dalam mengisolasi dan mengevaluasi mikroorganisme untuk menghasilkan senyawa rasa yang diinginkan. Proses skrining sangat penting dalam mengidentifikasi kandidat potensial untuk penelitian dan pengembangan produksi *bioflavor* dan *fragrance* lebih lanjut. Skrining potensi mikroba yang mampu menghasilkan senyawa *volatile compound* aromatik dari prekursor yang diujikan dilakukan menggunakan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS). GC-MS adalah teknik analisis yang sangat sensitif yang dapat mendeteksi dan mengukur senyawa yang mudah menguap pada konsentrasi yang sangat rendah. Tingkat sensitivitas GC-MS sangat penting ketika bekerja dengan campuran senyawa aroma yang kompleks, terutama yang dapat hadir dalam jumlah kecil.

Kemajuan teknologi dalam biologi molekuler telah meningkatkan efisiensi dan akurasi pemilihan mikroba dengan hasil produksi yang tinggi. Identifikasi molekuler memainkan peran penting dalam mengungkapkan mikroba sintesis *fragrances* yang paling optimal. Identifikasi molekuler melibatkan penggunaan *marker* molekuler, seperti sekuens DNA untuk mengkarakterisasi mikroorganisme pada tingkat genetik. Identifikasi secara molekuler menjadi metode yang cepat dan akurat untuk mengidentifikasi strain spesifik dengan kemampuan sintesis *fragrances*. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing DNA adalah teknik yang umum digunakan dalam proses identifikasi molekuler. PCR memperkuat daerah genetik tertentu, memungkinkan untuk mendeteksi

urutan gen yang terkait dengan jalur sintesis *fragrances*. Sekuensing urutan DNA akan memberikan informasi terperinci tentang susunan genetik mikroorganisme yang telah diskriminasi terlebih dahulu. Selain mengidentifikasi kemampuan sintesis *fragrances*, teknik molekuler juga memfasilitasi pemahaman mekanisme genetik yang mendasari produksi senyawa volatil. Proses eksplorasi mikroba penghasil senyawa aroma sangat berharga untuk mengoptimalkan kondisi fermentasi dan merekayasa strain untuk meningkatkan produksi rasa.

*Bioflavor* bertanggung jawab atas rasa dan aroma produk makanan, disintesis oleh mikroba selama proses metabolisme. Pemilihan serta konsentrasi substrat yang diperlukan oleh mikroba akan memainkan peran penting dalam memengaruhi jenis dan intensitas *fragrances* yang dihasilkan. Konsentrasi substrat dalam sintesis *fragrances* sangat penting untuk dapat mengoptimalkan produksi aroma dalam aplikasi bioteknologi. Konsentrasi substrat dapat memengaruhi ekspresi gen dan enzim yang terlibat dalam sintesis *fragrances*. Konsentrasi prekursor yang lebih tinggi dapat mengaktifkan jalur metabolisme tertentu, yang mengarah pada produksi jenis rasa dan aroma tertentu. Efek faktor prekursor merupakan pertimbangan penting dalam sintesis *fragrances*, terutama yang akan menghasilkan aroma wewangian. Didukung oleh penelitian Medeiros *et al.*, (2000) yang telah membuktikan bahwa metabolisme *Kluyveromyces marxianus* ketika substrat ampas singkong ditambah dengan 10% glukosa, mampu memproduksi ester (etil asetat) yang menghasilkan aroma buah pisang.

Secara keseluruhan, integrasi teknik skrining dan identifikasi molekuler secara signifikan dapat mengatasi tantangan yang dihadapi oleh industri sintesis *fragrances*. Konsentrasi prekursor adalah faktor penting dalam sintesis *fragrances*. Konsentrasi prekursor dan lama waktu fermentasi yang tepat dapat mengoptimalkan sintesis senyawa volatil yang bermanfaat pada industri *fragrances*. Adanya informasi baru bagi eksplorasi jalur produksi perisa dan aroma yang unik oleh isolat mikroba yang berkontribusi pada pengembangan perisa alami dan berkelanjutan dalam industri.

## **1.2 Perumusan Masalah**

- 1.2.1. Bagaimana skrining isolat penghasil *fragrances volatile compound* dari aktivitas mikroba fermentasi ketan secara kuantitatif menggunakan GC-MS?
- 1.2.2. Bagaimana identifikasi molekuler mikroba potensi penghasil *fragrances volatile compound*?
- 1.2.3. Bagaimana pengaruh konsentrasi prekursor dan lama waktu fermentasi selama biotransformasi oleh mikroba penghasil *fragrances*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1. Skrining isolat kultur koleksi yang berpotensi memproduksi

*fragrances* dari fermentasi ketan spontan secara kuantitatif menggunakan GC-MS.

1.3.2. Eksplorasi secara molekuler isolat kultur koleksi sintesis *fragrances* dari hasil skrining isolat fermentasi ketan.

1.3.3. Menganalisis pengaruh konsentrasi prekursor dan lama waktu fermentasi dalam proses sintesis *fragrances*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1.4.1. Data dan informasi dapat diaplikasikan pada industri *bioflavor* dan *fragrances* memanfaatkan mikroba koleksi sebagai agen penghasil *fragrances* secara optimal.