

FERMENTASI BAWANG PUTIH DENGAN *Rhizopus oryzae* DAN *Lactobacillus bulgaricus* SEBAGAI PENGAWET PANGAN***FERMENTATION OF GARLIC WITH *Rhizopus oryzae* AND *Lactobacillus bulgaricus* AS FOOD PRESERVATIVES***Adolf J. N. Parhusip^{1*}, Sherly¹¹Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan
Jl. M.H. Thamrin Boulevard No.1100, Klp. Dua, Kabupaten Tangerang, Banten 15811**ABSTRAK**

Bawang putih mengandung senyawa alisin yang dapat berperan sebagai senyawa antibakteri, tetapi menyebabkan terbentuknya aroma bawang putih yang tajam dan tidak disukai oleh sebagian masyarakat. *R. oryzae* memiliki kemampuan untuk memecah senyawa γ -glutamyl cysteine yang merupakan bahan dasar dari senyawa aliin dan prekursor untuk terbentuknya senyawa alisin. *L. bulgaricus* dapat menghasilkan asam organik yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mengawetkan produk pangan. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan proses fermentasi menggunakan *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* dalam menghasilkan bawang putih yang dapat diterima oleh masyarakat dan meningkatkan kemampuan ekstrak bawang putih sebagai pengawet alami produk pangan. Proses fermentasi bawang putih dilakukan dengan dua faktor perlakuan, yaitu lama fermentasi selama 24, 48, 72 jam dan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* dengan perbandingan 1:0, 1:1, dan 0:1. Perlakuan terpilih untuk fermentasi bawang putih adalah selama 72 jam dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1. Bawang putih terfermentasi memiliki nilai pH sebesar $3,72 \pm 0,05$, nilai TAT sebesar $0,53 \pm 0,01\%$, total bakteri asam laktat (BAL) sebesar $6,18 \pm 0,04 \log_{10}$ CFU/ml, total kapang sebesar $8,21 \pm 0,09 \log_{10}$ CFU/ml, TPC sebesar $8,33 \pm 0,22 \log_{10}$ CFU/ml, nilai skoring sebesar $2,89 \pm 0,26$, dan nilai hedonik sebesar $3,52 \pm 1,41$. Ekstrak bawang putih terfermentasi akan diuji kemampuan sebagai pengawet pangan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan perlakuan konsentrasi 0, 2, 4, 8, dan 16%. Ekstrak bawang putih terfermentasi efektif sebagai pengawet pangan pada konsentrasi 16% dengan zona hambat *S. aureus* sebesar $14,00 \pm 0,71$ mm dan *E. coli* sebesar $7,50 \pm 0,71$ mm. Ekstrak bawang putih terfermentasi lebih efektif menghambat *S. aureus* dibandingkan dengan *E. coli*. Kandungan total fenolik dan flavonoid pada bawang putih yang sudah difermentasi sebesar $2,46 \pm 0,12$ mgGAE/g dan $0,24 \pm 0,001$ mgQE/g. Ekstrak bawang putih terfermentasi mengandung senyawa aktif 2,3-butanediol, L-lactic acid, diallyl disulfide, dan diallyl trisulfide yang dapat berperan sebagai senyawa antibakteri, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan.

Kata Kunci : bawang putih, fermentasi, *R. oryzae*, *L. bulgaricus*, pengawet pangan**ABSTRACT**

Garlic contains allicin which can act as antibacterial compound, but it causes the formation of sharp garlic's aroma which is disliked by some people. *R. oryzae* has the ability to break down γ -glutamyl cysteine, which is the basic ingredient of aliin and a precursor to formation of allicin. *L. bulgaricus* can produces organic acids that inhibit the growth of pathogenic bacteria and preserve food products. The aim of this research was to utilize fermentation of *R. oryzae* and *L. bulgaricus* to produce garlic product that's acceptable for public and to increase the ability of garlic extract as natural preservatives for food products. The fermentation process of garlic was carried out with two treatment factors, which were fermentation time for 24, 48, 72 hours and the ratio of *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:0, 1:1, and 0:1. The best treatment for garlic fermentation was 72 hours with the ratio of *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1. Fermented garlic had pH value of 3.72 ± 0.05 , TAT value of $0.53 \pm 0.01\%$, total lactic acid bacteria (LAB) of $6.18 \pm 0.04 \log_{10}$ CFU/ml, total molds of $8.21 \pm 0.09 \log_{10}$ CFU/ml, TPC of $8.33 \pm 0.22 \log_{10}$ CFU/ml, scoring value of 2.89 ± 0.26 , and hedonic value of 3.52 ± 1.41 . Fermented garlic extract will be tested for its ability as food preservatives on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with concentrations of 0, 2, 4, 8, and 16%. Fermented garlic extract was effective as food preservatives at concentration of 16% with inhibition zone of *S. aureus* was 14.00 ± 0.71 mm and

*) Penulis Korespondensi.

E-mail: adolf.parhusip@uph.edu

Telp: +62-8128258337

E. coli was 7.50 ± 0.71 mm. Fermented garlic extract was more effective on inhibiting *S. aureus* than *E. coli*. Total phenolic and flavonoid content in fermented garlic was 2.46 ± 0.12 mgGAE/g and 0.24 ± 0.001 mgQE/g. Fermented garlic extract contains active compounds such as 2,3-butanediol, L-lactic acid, diallyl disulfide, and diallyl trisulfide which can act as antibacterial, antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant.

Keywords: garlic, fermentation, *R. oryzae*, *L. bulgaricus*, food preservatives

Pendahuluan

Bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman herba berumpun yang terdiri atas siung-siung berwarna putih yang membentuk umbi besar. Bawang putih diaplikasikan untuk meningkatkan flavor dari masakan atau sebagai minuman herbal. Senyawa aktif bawang putih berpotensi sebagai antibakteri, antijamur, antiprotozoa, antitumor, dan memiliki sifat protektif terhadap sistem kardiovaskular. Senyawa aktif yang dapat berperan sebagai senyawa antibakteri adalah alisin, saponin, *ajoene*, dan flavonoid (Salima, 2015).

R. oryzae termasuk kapang berfilamen yang sudah diakui oleh Food and Drug Administration (FDA) sebagai Generally Recognized As Safe (GRAS) (Cantabrana *et al.*, 2015). *R. oryzae* dapat dimanfaatkan dalam submerged fermentation (SMF) dan solid state fermentation (SSF) pada berbagai bahan pangan (Hermansyah *et al.*, 2019). *Lactobacillus bulgaricus* termasuk bakteri asam laktat homofermentatif yang hanya menghasilkan produk samping berupa asam laktat dan lebih tahan kondisi asam dibandingkan dengan jenis *Streptococcus* dan *Pediococcus* (Rahman *et al.*, 2019). Asam organik dan senyawa bakteriosin yang dihasilkan dari proses fermentasi menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Rahmiati dan Mumpuni, 2017).

Komponen utama dalam bawang putih adalah senyawa aliin yang aktif menjadi senyawa alisin pada saat bawang putih dipotong atau dihancurkan. Alisin termasuk komponen organosulfur yang berperan dalam memberikan aroma khas bawang putih yang kurang disukai oleh sebagian besar masyarakat karena memiliki aroma yang cukup tajam (Salima, 2015). Komponen alisin juga termasuk komponen yang kurang stabil sehingga dapat terpecah menjadi senyawa diallyl sulfide (Matsutomo, 2020). Senyawa diallyl sulfide yang merupakan turunan dari senyawa alisin memiliki aktivitas antimikroba yang lebih lemah dibandingkan alisin karena

hanya dapat menghambat bakteri Gram positif (Nakamoto *et al.*, 2020).

Black garlic memiliki aroma bawang putih yang tidak kuat dan meningkatkan komponen total polifenol dan flavonoid dalam bawang putih, akan tetapi pembuatan black garlic mengubah penampilan bawang putih menjadi kurang menarik, membutuhkan waktu yang lama, dan biaya yang cukup mahal (Lee *et al.*, 2016). Penelitian dilakukan untuk mengkaji lebih lanjut kemampuan senyawa antibakteri pada bawang putih yang sudah difermentasi menggunakan *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* pada rasio tertentu dengan tujuan untuk mengubah atau menurunkan aroma tajam pada bawang putih dan menghasilkan bawang putih yang dapat diterima oleh seluruh masyarakat. Bawang putih yang telah melalui proses fermentasi akan diuji aktivitas antibakteri yang biasanya berperan dalam memperpanjang umur simpan pada produk pangan.

Metode Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan untuk fermentasi adalah bawang putih varietas Tawangmangu Baru dengan diameter 5-6 cm dan kacang kedelai dengan diameter 0,5-0,7 cm yang diperoleh dari Pasar Kotabumi Tangerang, isolat *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Pelita Harapan, akuades "Amidis" steril, dan glukosa monohidrat "Merck". Bahan yang digunakan untuk analisis adalah NaOH "Merck", asam galat "Merck", Folin-Ciocalteu "Merck", Na_2CO_3 "Merck", BSTFA, TMCS, etanol "Merck", quercetin "Merck", AlCl_3 "Merck", NaCl "Merck", *S. aureus* ATCC 8939, dan *E. coli* ATCC 25922.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah dry blender "Sanyo", heater "Torrey Pines Scientific", timbangan analitik "Ohaus", cawan petri disposable "Citotest", mikroskop "Olympus", oven "Memmert", inkubator "Memmert", laminar air flow "Esco EHC-4", autoclave "Hirayama", GC-MS "6890",

centrifuge “Hermle”, spektrofotometer UV-Vis “Genesys 10S”, spektrofotometer *visible* “Genesys 20”, pH meter “Metrohm 913”, *colony counter* “Funke Gerber”, *vortex* “Thermolyne”, *rotary evaporator* “Buchi R-210”, dan jangka sorong “Tricle Brand”.

Prosedur

Penelitian Tahap I

Penelitian tahap I dilakukan untuk memengaruhi aroma dari bawang putih melalui proses fermentasi menggunakan *R. oryzae* dan *L. bulgaricus*. Penelitian tahap I menggunakan bawang putih sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam media fermentasi sesuai perlakuan yaitu rasio *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* yaitu 1:0, 1:1, dan 0:1 yang dimasukkan dalam media fermentasi. Media fermentasi bawang putih terdiri atas 100 ml akuades yang sudah disterilisasi ditambahkan dengan 12% tepung kacang kedelai (b/b) dan 12% glukosa (b/b) sesuai perlakuan yang difermentasi selama 24, 48, dan 72 jam pada suhu ruang dalam kondisi anaerob untuk menghasilkan bawang putih terfermentasi.

Persiapan sampel bawang putih dilakukan berdasarkan Lee *et al.* (2016). Bawang putih sebanyak 1 kg dikupas kulitnya, dicuci hingga bersih, dan direbus pada suhu 80°C selama 15 menit untuk menginaktivasi enzim aliinase. Bawang putih dihancurkan menggunakan blender untuk memicu munculnya aroma khas bawang putih. Persiapan tepung kacang kedelai sebagai media pemicu pertumbuhan *R. oryzae* dilakukan berdasarkan metode Thomas *et al.* (2017) dengan modifikasi. Kacang kedelai dikeringkan dengan sinar matahari selama 1 hari. Kacang kedelai kering dihancurkan menggunakan blender hingga membentuk tepung dan dikeringkan menggunakan cabinet dryer pada suhu 60°C selama 4 jam. Perlakuan terpilih dari hasil penelitian tahap I dianalisis menggunakan GC-MS dan digunakan pada penelitian tahap II.

Penelitian Tahap II

Penelitian tahap II dilakukan berdasarkan penelitian Rahman *et al.* (2019). Supernatan dengan konsentrasi 0% (kontrol), 2%, 4%, 8%, dan 16% digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Kontrol yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah akuades steril. Bakteri uji yang digunakan *S. aureus* dan *E. coli*.

Kemampuan penghambatan ekstrak bawang putih terfermentasi akan dibandingkan efektifitasnya antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

Rancangan Percobaan

Pengujian statistik untuk penelitian tahap I menggunakan *two way* ANOVA (pH, TAT, TPC, organoleptik, total fenolik, dan total flavonoid), *one way* ANOVA (total bakteri asam laktat dan total kapang), dan uji t (total bakteri asam laktat dan total kapang). Penelitian tahap II menggunakan analisis statistik *one way* ANOVA untuk zona penghambatan bakteri dan uji t untuk efektifitas penghambatan antara *S. aureus* dan *E. coli*.

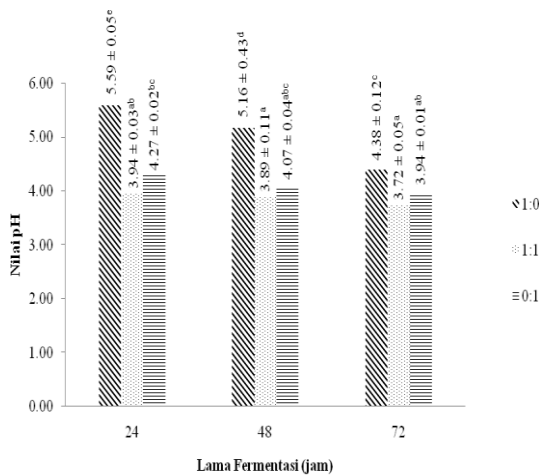
Analisis

Analisis kadar air dilakukan pada bawang putih segar dan tepung kacang kedelai berdasarkan metode AOAC (2005). Bawang putih terfermentasi dari hasil penelitian tahap I akan dianalisis untuk pH (AOAC, 2005), TAT (BSN, 2009), total BAL (BSN, 2009), total kapang (Atma, 2016), TPC (BSN, 2008), total fenolik (Marjoni *et al.*, 2015), dan total flavonoid (Aminah *et al.*, 2017). Analisis organoleptik dilakukan dengan uji skoring dan hedonik (Novidahlia *et al.*, 2015). Hasil dari penelitian tahap I akan dianalisis dengan GC-MS (Darmapatni *et al.*, 2016). Pada penelitian tahap II, ekstrak bawang putih terfermentasi akan dianalisis untuk aktivitas antibakteri (Rahman, *et al.*, 2019).

Hasil dan Pembahasan

Nilai pH Bawang Putih Terfermentasi

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi, rasio kultur, dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur memberikan pengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap nilai pH bawang putih terfermentasi. Nilai pH yang terendah ditunjukkan pada proses fermentasi selama 72 jam, yaitu sebesar $4,02 \pm 0,06$ dan rasio kultur 1:1, yaitu sebesar $3,85 \pm 0,01$. Data nilai pH berdasarkan interaksi antara lama fermentasi dan rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 1. Pengaruh lama fermentasi dan rasio kultur terhadap pH bawang putih terfermentasi

Berdasarkan Gambar 1, nilai pH semakin mengalami penurunan seiring dengan lamanya proses fermentasi. Nilai pH paling rendah ditunjukkan pada bawang putih yang difermentasi dengan rasio kultur *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* 1:1 selama 72 jam. Nilai pH terendah yaitu sebesar $3,72 \pm 0,05$. Menurut BIS (2019), standar untuk nilai pH untuk produk minuman fermentasi harus berkisar antara 3,8 hingga 4,6. pH pada perlakuan waktu 72 jam untuk rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1 belum memenuhi standar yang ditetapkan oleh BIS (2019).

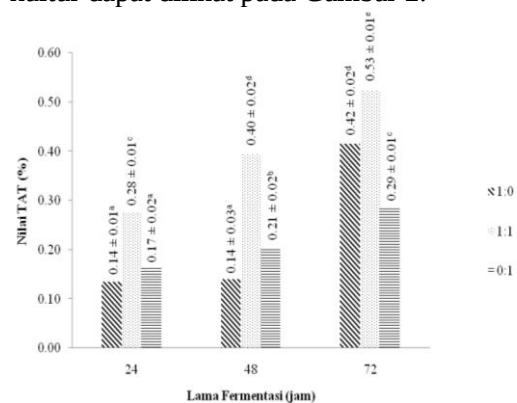
Berdasarkan penelitian Benabda *et al.* (2019), enzim yang diproduksi oleh *R. oryzae* melalui fermentasi pada dedak padi optimal pada lama fermentasi 120 jam dan mulai mengalami penurunan pada 144 jam karena sebagian besar komponen karbon, nitrogen, dan fosfor sudah dimanfaatkan oleh pertumbuhan *R. oryzae*. Peningkatan jumlah enzim α -amilase menyebabkan semakin banyak komponen glukosa yang dipecah menjadi asam laktat dan menurunkan pH media fermentasi bawang putih (Fu *et al.*, 2016).

Bawang putih yang difermentasi dengan *L. bulgaricus* memiliki pH $4,1 \pm 0,04$ pH tersebut lebih rendah daripada pH bawang putih yang difermentasi dengan *R. oryzae*, yaitu sebesar $5,04 \pm 0,12$. Penelitian Takano dan Hoshino (2016) menunjukkan bahwa *R. oryzae* yang diinokulasi pada media PDA yang ditambahkan dengan 120 g/L glukosa hanya dapat menghasilkan asam laktat sebanyak 9,7 g/L.

pH bawang putih yang difermentasi menggunakan dua jenis kultur lebih rendah jika dibandingkan dengan hanya menggunakan salah satu jenis kultur karena *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* saling mendukung pertumbuhan satu sama lain. Menurut penelitian Rombouts *et al.* (2020), bakteri asam laktat dapat bertumbuh dengan baik dalam *Sequencing Batch Bioreactor* (SBR) berisi glukosa yang diperkaya dengan komponen vitamin B dan peptida dibandingkan dengan media yang hanya diperkaya dengan komponen mineral. SBR yang hanya diperkaya dengan komponen mineral memiliki kandungan glukosa 25% lebih tinggi dibandingkan dengan SBR yang diperkaya dengan vitamin B dan peptida. Pada saat pemecahan komponen glukosa menjadi asam laktat, *L. bulgaricus* membutuhkan vitamin B dan komponen peptida. Bakteri *L. bulgaricus* tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis vitamin B dan asam amino sehingga membutuhkan *R. oryzae* (Rombouts *et al.*, 2020).

Nilai TAT Bawang Putih Terfermentasi

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi, rasio kultur, dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur memberikan pengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap nilai TAT bawang putih terfermentasi. Nilai TAT tertinggi ditunjukkan pada lama fermentasi 72 jam, yaitu sebesar $0,41 \pm 0,002\%$ dan rasio kultur 1:1 sebesar $0,40 \pm 0,002\%$. Data nilai TAT berdasarkan interaksi antara lama fermentasi dan rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan : Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 2. Pengaruh lama fermentasi dan rasio kultur terhadap TAT bawang putih terfermentasi

Nilai TAT semakin mengalami peningkatan seiring dengan lamanya proses fermentasi. Nilai TAT paling tinggi

ditunjukkan pada bawang putih yang difermentasi dengan rasio kultur *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* 1:1 selama 72 jam sebesar $0,53 \pm 0,01\%$. Nilai TAT dari bawang putih terfermentasi pada perlakuan rasio 1:1 dengan lama fermentasi 24, 48, dan 72 jam memenuhi standar yang ditetapkan oleh BSN (2009), yaitu antara 0,2-0,9.

Nilai TAT bawang putih difermentasi menggunakan *R. oryzae* cukup rendah karena hanya terdapat satu jenis asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme *R. oryzae*. Metabolisme *R. oryzae* dalam memecah komponen glukosa menjadi asam laktat dan protein menjadi asam amino menyebabkan peningkatan jumlah asam dalam bawang putih terfermentasi (Benabda *et al.*, 2019).

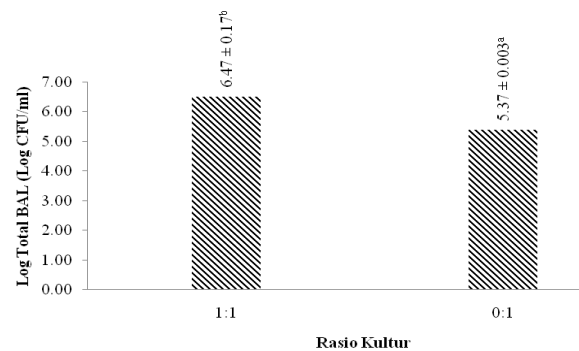
L. bulgaricus memecah komponen glukosa yang terdapat dalam karbohidrat menjadi asam laktat sehingga jumlah asam dalam media fermentasi mengalami peningkatan. Bawang putih yang merupakan bahan pangan dengan kandungan karbohidrat yang tinggi dapat menjadi substrat yang baik untuk pertumbuhan *L. bulgaricus* (Lee *et al.*, 2016). Nilai TAT bawang putih yang difermentasi oleh *L. bulgaricus* tidak berbeda signifikan dengan bawang putih yang difermentasi oleh *R. oryzae* karena jumlah asam yang terukur menggunakan metode titrasi bukan hanya berasal dari asam laktat yang terdisosiasi, tetapi juga berasal dari komponen asam organik yang lain seperti asam amino (Sorensen *et al.*, 2016).

Nilai TAT mengalami peningkatan seiring dengan semakin lama waktu fermentasi. Penelitian Takano dan Hoshino (2016) menunjukkan kemampuan *R. oryzae* menghasilkan asam laktat melalui fermentasi pada 15 jenis sumber karbon selama 120 jam. *R. oryzae* mampu mengubah komponen heksosa seperti glukosa, galaktosa, manosa, dan fruktosa menjadi asam laktat dengan jumlah asam laktat berkisar antara 0,60 hingga 0,65 g/L. *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* mampu menghasilkan asam laktat sehingga jumlah asam dalam media fermentasi lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan satu jenis kultur (Benabda *et al.*, 2019).

Total BAL Bawang Putih Terfermentasi

Rasio kultur memberikan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap total bakteri asam laktat bawang putih terfermentasi. Total

bakteri asam laktat tertinggi terdapat pada rasio 1:1, yaitu sebesar $6,49 \pm 0,17$ CFU/ml. Data total bakteri asam laktat berdasarkan pengaruh rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 3. Pengaruh rasio kultur terhadap total bakteri asam laktat bawang putih terfermentasi

Nilai pH dan TAT berkaitan dengan jumlah bakteri asam laktat yang tumbuh dalam bawang putih terfermentasi. Peningkatan jumlah bakteri asam laktat akan semakin menurunkan nilai pH dan meningkatkan nilai TAT (Rahman *et al.*, 2019). Standar jumlah bakteri asam laktat berdasarkan BSN (2009) dan BIS (2019) adalah minimal 10^6 CFU/g. Standar jumlah bakteri asam laktat berdasarkan CAC (2018) adalah minimal 10^7 CFU/g. Berdasarkan FSANZ (2016), standar jumlah bakteri asam laktat adalah minimal 10^8 CFU/g.

Rasio 1:1 memiliki total bakteri asam laktat lebih tinggi dibandingkan dengan rasio 0:1. Total bakteri asam laktat pada bawang putih yang difermentasi dengan rasio 1:1 adalah $6,49 \pm 0,17$ CFU/ml. Jumlah bakteri asam laktat pada bawang putih yang difermentasi dengan rasio 1:1 memenuhi standar yang sudah ditetapkan oleh BSN (2009) dan BIS (2019).

R. oryzae memecah komponen karbohidrat dan protein dalam bawang putih serta menyediakan komponen karbon, nitrogen, serta fosfor yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memiliki keterbatasan dalam memecah vitamin B dan komponen peptida yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya sehingga bawang putih difermentasi *L. bulgaricus* memiliki pertumbuhan bakteri asam laktat yang kurang stabil (Rombouts *et al.*, 2020).

Total Kapang dalam Bawang Putih Terfermentasi

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi dan rasio kultur tidak memberikan perbedaan signifikan ($p>0,05$) terhadap total kapang bawang putih terfermentasi. Berdasarkan lama fermentasi, total kapang dalam bawang putih terfermentasi berkisar antara 7,03 hingga 8,16 log CFU/ml. Data total kapang bawang putih terfermentasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan rasio *R. oryzae*: *L. bulgaricus*, total kapang bawang putih terfermentasi berkisar antara 7,38 hingga 8,04 log CFU/ml. Jumlah *R. oryzae* dalam bawang putih terfermentasi stabil karena *R. oryzae* memiliki kemampuan untuk memecah berbagai komponen makromolekul dalam bawang putih sehingga nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya dapat terpenuhi. Peningkatan jumlah kapang akan semakin menurunkan nilai pH dan meningkatkan nilai TAT (Benabda *et al.*, 2019).

Tabel 1. Data log total kapang bawang putih terfermentasi

Faktor	Perlakuan	Log Total Kapang (Log ₁₀ CFU/ml)
Lama Fermentasi (jam)	24	7,03 ± 0,10 ^a
	48	7,93 ± 0,50 ^a
	72	8,16 ± 0,001 ^a
Rasio Kultur	1:0	8,04 ± 0,001 ^a
	1:1	7,38 ± 0,27 ^a

Total Plate Count (TPC) dalam Bawang Putih Terfermentasi

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi, rasio kultur, dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur tidak memberikan pengaruh signifikan ($p>0,05$) terhadap TPC bawang putih terfermentasi. Nilai TPC dalam bawang putih terfermentasi sesuai dengan jumlah koloni *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* yang dapat tumbuh dalam bawang putih terfermentasi (Benabda *et al.*, 2019). Data log TPC bawang putih terfermentasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data log TPC bawang putih terfermentasi

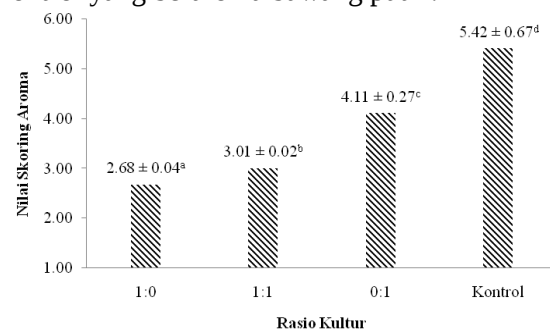
Faktor	Perlakuan	Log TPC (Log ₁₀ CFU/ml)
Lama Fermentasi	24	7,77 ± 0,14 ^a
	48	7,91 ± 0,07 ^a

(jam)	72	8,01 ± 0,14 ^a
Rasio Kultur	1:0	8,00 ± 0,26 ^a
	1:1	8,03 ± 0,38 ^a
	0:1	7,66 ± 0,29 ^a

Nilai Skoring Aroma Bawang Putih Terfermentasi

Rasio kultur memberikan pengaruh signifikan ($p\leq 0,05$) terhadap nilai skoring aroma bawang putih terfermentasi. Nilai skoring aroma terendah terdapat pada perlakuan dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:0, yaitu sebesar 2,68 ± 0,04. Nilai skoring aroma bawang putih terfermentasi berdasarkan pengaruh rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 4.

Rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:0 memiliki nilai skoring aroma yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lain dan kontrol. Kontrol yang digunakan dalam uji skoring aroma adalah bawang putih yang tidak diberikan perlakuan apapun atau bawang putih segar. Nilai skoring aroma dari bawang putih yang difermentasi dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:0 dan 1:1 termasuk ke dalam kategori “agak tidak beraroma bawang putih”. Perlakuan dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 0:1 termasuk ke dalam kategori “agak beraroma bawang putih”. Perlakuan dengan rasio 0:1 yang paling mendekati dengan kontrol yang beraroma bawang putih.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p\leq 0,05$)

Gambar 4. Pengaruh rasio kultur terhadap nilai skoring aroma bawang putih terfermentasi

Menurut penelitian Ibarruri dan Hernández (2017), fermentasi *R. oryzae* dapat menurunkan konsentrasi gula dan meningkatkan kandungan protein dalam buah-buahan. Komponen asam amino esensial yang mengalami peningkatan yaitu *valine*, *leucine*, *threonine*, *isoleucine*, dan *arginine*. Selanjutnya Kurniati *et al.* (2017), menyebutkan peningkatan kandungan protein

dalam tanaman *Jatropha curcas* L. disebabkan oleh hasil samping dari proses fermentasi dan penambahan komponen protein yang berasal dari pertumbuhan sel *R. oryzae*. Kemampuan pemecahan komponen γ -glutamyl cysteine oleh *R. oryzae* mampu mengurangi komponen aliin dalam bawang putih yang merupakan prekursor munculnya aroma bawang putih dan menutupi aroma bawang putih (Endrawati dan Kusumaningtyas, 2017).

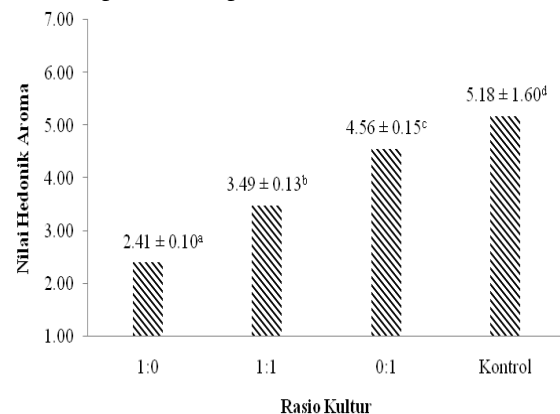
Berdasarkan hasil uji skoring, panelis masih dapat mendeteksi aroma bawang putih pada bawang putih yang difermentasi dengan *L. bulgaricus* termasuk bakteri homofermentatif sehingga hanya dapat menghasilkan produk samping berupa asam laktat (Rahman *et al.*, 2019). Bakteri asam laktat tidak dapat memecah komponen peptida seperti γ -glutamyl cysteine yang terdapat dalam bawang putih sehingga aroma dari bawang putih masih tetap terdeteksi (Rombouts *et al.*, 2020). Aroma yang terbentuk dari bawang putih yang difermentasi dengan *L. bulgaricus* hanya berasal dari aroma asam laktat yang terbentuk. Aroma asam laktat tersebut kurang kuat untuk menutupi aroma bawang putih (Chen *et al.*, 2017).

Nilai skoring bawang putih yang difermentasi dengan *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* termasuk ke dalam kategori “agak tidak beraroma bawang putih”, akan tetapi nilai skoring aroma bawang putih yang difermentasi dengan *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* masih lebih tinggi daripada bawang putih yang difermentasi dengan *R. oryzae*. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan dengan bawang putih yang hanya difermentasi dengan *R. oryzae*. Komponen asam amino yang dihasilkan dari pemecahan komponen protein oleh *R. oryzae* akan dimanfaatkan untuk pertumbuhan *L. bulgaricus* sehingga komponen asam amino bebas yang terdapat dalam media fermentasi bawang putih lebih sedikit dibandingkan dengan bawang putih yang hanya difermentasi dengan *R. oryzae* (Rombouts *et al.*, 2020). Aroma bawang putih dapat ditutupi oleh aroma asam laktat yang dihasilkan oleh *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* (Chen *et al.*, 2017).

Nilai Hedonik Aroma Bawang Putih Terfermentasi

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur tidak memberikan pengaruh signifikan ($p > 0,05$)

terhadap nilai hedonik aroma bawang putih terfermentasi. Rasio kultur memberikan pengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap nilai hedonik aroma bawang putih terfermentasi. Nilai hedonik aroma paling tinggi pada perlakuan kontrol, yaitu sebesar $5,18 \pm 1,60$. Data nilai hedonik aroma bawang putih terfermentasi berdasarkan pengaruh rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 5.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 5. Pengaruh rasio kultur terhadap nilai hedonik aroma bawang putih terfermentasi

Perlakuan kontrol memiliki nilai hedonik yang tertinggi dan masuk ke dalam kategori “agak suka”. Nilai hedonik aroma dari bawang putih terfermentasi dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 0:1 paling mendekati kontrol dan termasuk ke dalam kategori “agak suka”. Perlakuan dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1 termasuk ke dalam kategori “agak tidak suka”. Perlakuan dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:0 termasuk ke dalam kategori “tidak suka”.

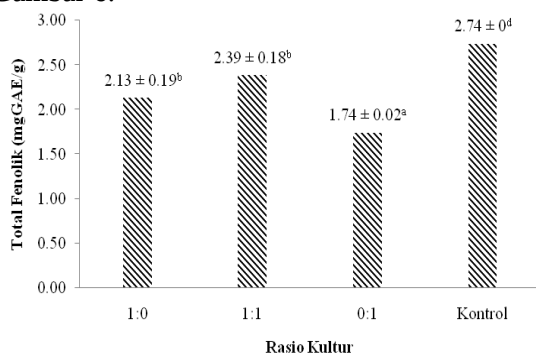
Bawang putih yang difermentasi dengan *R. oryzae* tidak disukai oleh panelis karena adanya komponen asam amino yang berasal dari pemecahan komponen protein dalam bawang putih dan tepung kacang kedelai yang menjadi pemicu pertumbuhan *R. oryzae* (Kurniati *et al.*, 2017). Asam amino termasuk salah satu jenis komponen amina. Komponen amina adalah senyawa organik yang terdiri atas senyawa nitrogen, berasal dari proses proteolisis dan dapat menimbulkan aroma busuk pada bahan pangan (Met dan Yesilcubuk, 2017).

Bawang putih yang difermentasi dengan *L. bulgaricus* masih masuk agak disukai oleh panelis karena aroma dari bawang putih mendekati aroma bawang putih kontrol.

Aroma asam laktat dari hasil fermentasi *L. bulgaricus* kurang kuat untuk menutupi aroma dari bawang putih (Chen *et al.*, 2017). Aroma bawang putih terfermentasi dengan rasio *R. oryzae*: *L. bulgaricus* 1:1 masih dapat diterima dibandingkan bawang putih yang hanya difermentasi dengan *R. oryzae*. Komponen asam amino yang sudah dipecah oleh *R. oryzae* dimanfaatkan sebagai nutrisi *L. bulgaricus* sehingga dapat mencegah munculnya aroma busuk yang disebabkan oleh komponen tersebut. Aroma asam laktat yang dihasilkan *L. bulgaricus* juga dapat mengurangi aroma yang kurang dapat diterima dari hasil fermentasi *R. oryzae* (Rombouts *et al.*, 2020).

Total Fenolik Bawang Putih Terfermentasi

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur bawang putih terfermentasi tidak memberikan pengaruh signifikan ($p > 0,05$) terhadap kandungan total fenolik. Rasio kultur bawang putih terfermentasi memberikan pengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap kandungan total fenolik. Kandungan total fenolik paling tinggi terdapat pada perlakuan kontrol, yaitu sebesar $2,74 \pm 0$ mgGAE/g. Data total fenolik berdasarkan rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 6.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 6. Kandungan total fenolik dalam bawang putih terfermentasi

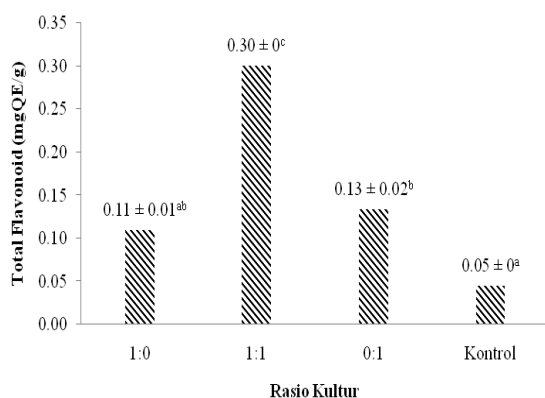
Bawang putih yang sudah difermentasi dengan setiap perlakuan rasio *R. oryzae* : *L. bulgaricus* memiliki kandungan total fenolik yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Menurut Adebo dan Meza (2020), penurunan kandungan total fenolik dalam bahan pangan yang difermentasi disebabkan oleh degradasi dan hidrolisis komponen fenolik. Proses fermentasi dapat mengubah komponen fenolik dari bentuk terikat atau

terkonjugasi menjadi bentuk bebas (Balli *et al.*, 2020). Bawang putih yang hanya difermentasi dengan *L. bulgaricus* memiliki kandungan total fenolik yang lebih rendah karena *L. bulgaricus* tidak memiliki kemampuan untuk memecah komponen peptida yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya sehingga lebih cepat memasuki fase kematian. Kandungan total fenolik dalam bawang putih yang hanya difermentasi dengan *R. oryzae* tidak berbeda nyata dengan bawang putih yang difermentasi pada rasio 1:1 karena proses fermentasi menggunakan *R. oryzae* mampu mendegradasi komponen fenolik menjadi asam ferulat (Adebo dan Meza, 2020).

Total Flavonoid Bawang Putih Terfermentasi

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama fermentasi dan interaksi antara lama fermentasi dengan rasio kultur bawang putih terfermentasi tidak memberikan pengaruh signifikan ($p > 0,05$) terhadap kandungan total flavonoid. Rasio kultur bawang putih terfermentasi memberikan pengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap kandungan total flavonoid. Kandungan total flavonoid paling tinggi terdapat pada perlakuan dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1, yaitu sebesar $0,30 \pm 0$ mgQE/g. Data total flavonoid bawang putih terfermentasi berdasarkan rasio kultur dapat dilihat pada Gambar 7.

Fermentasi dengan *L. bulgaricus* dapat meningkatkan kandungan flavonoid dalam bawang putih karena komponen flavonoid yang terlepas dari proses degradasi komponen fenolik (Adebo dan Meza, 2020). *R. oryzae* dapat memecah dan menghasilkan komponen peptida membantu mengoptimalkan pertumbuhan *L. bulgaricus* sehingga jumlah komponen flavonoid yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih yang hanya difermentasi dengan *L. bulgaricus* (Rombouts *et al.*, 2020).



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 7. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak bawang putih terfermentasi

Analisis Perlakuan Terpilih Penelitian Tahap I Menggunakan GC-MS

Hasil dari penelitian tahap I menunjukkan bahwa perlakuan terpilih adalah bawang putih yang difermentasi dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* 1:1 dan lama fermentasi 72 jam. GC-MS mendeteksi empat senyawa aktif pada ekstrak bawang putih terfermentasi. Data senyawa aktif dalam ekstrak bawang putih terfermentasi yang dapat berperan sebagai pengawet pangan terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis senyawa kimia ekstrak bawang putih terfermentasi

No.	Rf (menit)	Luas Area (%)	Jenis Senyawa	Fungsi
1.	2,88	17,33	2,3- <i>butanediol</i>	Antibakteri, antiinflamasi (Yi <i>et al.</i> , 2016)
2.	4,10	80,94	<i>L-lactic acid</i>	Antimikroba, antioksidan (Nikolić <i>et al.</i> , 2015)
3.	5,58	0,74	<i>Diallyl disulfide</i> (turunan senyawa alisin)	Antibakteri (Kueete, 2017)
4.	7,79	0,99	<i>Diallyl trisulfide</i> (turunan senyawa alisin)	Antibakteri (Kueete, 2017)

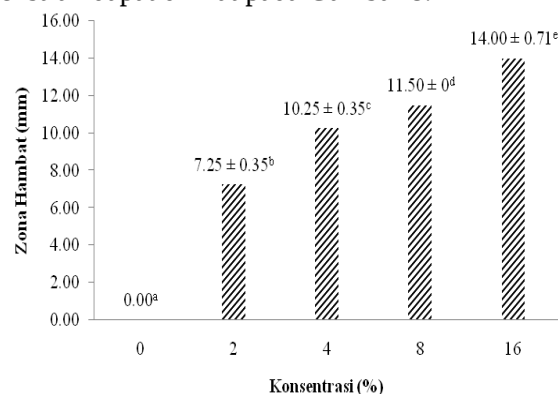
Pada penelitian Yi *et al.* (2016), Komponen 2,3-*butanediol* pada akar tanaman dapat menghambat pertumbuhan dari *E. coli* karena jumlah sel yang terdeteksi menggunakan spektrofotometer mengalami penurunan nilai absorbansi seiring dengan waktu. Menurut Soltan *et al.* (2016), komponen *diallyl disulfide* dan *diallyl trisulfide* yang terdeteksi dalam *garlic oil*

memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Nikolić *et al.* (2015), *L-lactic acid* dengan konsentrasi 102 mg/ml dapat menghambat *E. coli* dengan zona hambat sebesar $16,6 \pm 1,15$ mm dan *S. aureus* sebesar $16,0 \pm 1,00$ mm. Aroma khas pada bawang putih dapat ditutupi oleh aroma asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi *R. oryzae* dan *L. bulgaricus* (Chen *et al.*, 2017).

Analisis Aktivitas Antibakteri

Diameter Zona Hambat *S. aureus*

Konsentrasi ekstrak bawang putih terfermentasi berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap zona hambat *S. aureus*. Diameter zona hambat *S. aureus* paling besar ditunjukkan pada konsentrasi 16%, yaitu $14,00 \pm 0,71$ mm. Data diameter zona hambat *S. aureus* berdasarkan pengaruh konsentrasi ekstrak dapat dilihat pada Gambar 8.



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 8. Pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat *S. aureus*

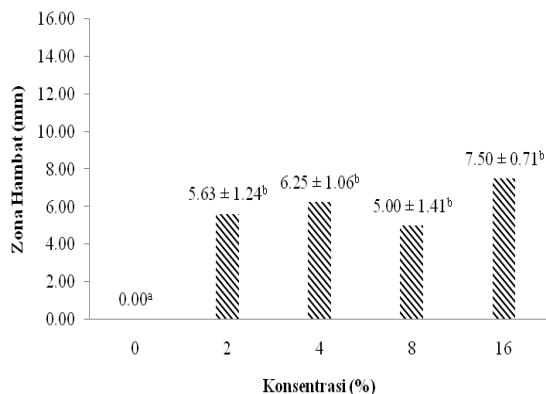
Menurut penelitian Yadav *et al.* (2015), zona hambat untuk *S. aureus* yang diuji menggunakan ekstrak bawang putih mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Konsentrasi 10% dan 25% memiliki diameter zona hambat sebesar 9,8 mm dan 15,56 mm. Ekstrak bawang putih terfermentasi pada konsentrasi 16% memiliki diameter zona hambat yang hampir sama dengan ekstrak bawang putih biasa pada konsentrasi 25%.

Penghambatan *S. aureus* berasal dari asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi dan komponen aktif dalam bawang putih terfermentasi. Asam lemah seperti asam laktat biasanya tidak terdisosiasi sepenuhnya dalam air. Molekul asam laktat yang tidak terdisosiasi dapat masuk ke dalam sitoplasma *S. aureus* karena tidak memiliki muatan.

Sitoplasma sel *S. aureus* memiliki pH yang lebih tinggi dibandingkan dengan pH di lingkungan luar sehingga molekul asam laktat akan terdisosiasi dan melepaskan ion H^+ . Kondisi asam dapat merusak sel *S. aureus* (Zhou dan Fey, 2020).

Diameter Zona Hambat *E. coli*

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak bawang putih terfermentasi berpengaruh signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap diameter zona hambat *E. coli*. Konsentrasi ekstrak 2, 4, 8, dan 16% berbeda signifikan dengan konsentrasi ekstrak 0% (kontrol). Konsentrasi ekstrak 2, 4, 8, dan 16% tidak memberikan perbedaan signifikan antar perlakuan satu dengan yang lain. Data diameter zona hambat *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 9.



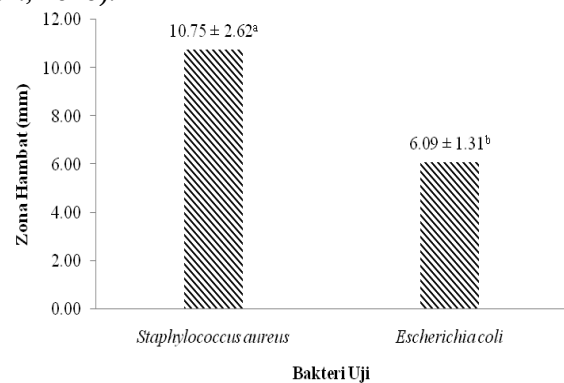
Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 9. Pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat *E. coli*

Diameter zona hambat *E. coli* pada konsentrasi 16% sebesar $7,50 \pm 0,71$ mm. Kemampuan ekstrak bawang putih terfermentasi dalam menghambat *E. coli* lebih lemah daripada kemampuan ekstrak bawang putih biasa. Menurut Yadav *et al.* (2015), ekstrak bawang putih pada konsentrasi 5% mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* sebesar 6,28 mm. Bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap senyawa antibiotik atau komponen aktif. Membran terluar bakteri Gram negatif dapat mengubah sifat hidrofobik atau mengalami mutasi pada bagian porin sehingga dapat mencegah komponen antibiotik atau komponen aktif masuk ke dalam sel. Kemampuan yang dimiliki oleh bakteri Gram negatif menyebabkan pertumbuhannya sulit untuk dihambat oleh ekstrak bawang putih terfermentasi (Breijyeh *et al.*, 2020).

Efektifitas Penghambatan Ekstrak Bawang Putih Terfermentasi yang Terpilih

Analisis statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) untuk efektifitas ekstrak bawang putih terfermentasi dalam menghambat *S. aureus* dan *E. coli*. Efektifitas penghambatan ekstrak bawang putih terfermentasi terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 10. Nilai rata-rata diameter zona hambat *S. aureus* lebih tinggi daripada *E. coli*, yaitu $10,75 \pm 2,62$ mm. Membran terluar *E. coli* memiliki kemampuan untuk mengubah sifat hidrofobik sehingga komponen aktif maupun asam laktat dari bawang putih terfermentasi tidak dapat masuk ke dalam sel *E. coli*. *E. coli* memiliki resistensi lebih besar terhadap ekstrak bawang putih terfermentasi dibandingkan *S. aureus* yang merupakan bakteri Gram positif (Breijyeh *et al.*, 2020).



Keterangan: Perbedaan notasi huruf menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)

Gambar 10. Efektifitas ekstrak bawang putih terfermentasi dalam menghambat *S. aureus* dan *E. coli*

Penentuan Perlakuan Terpilih Penelitian Tahap II

Hasil dari penelitian tahap II menunjukkan bahwa perlakuan terpilih adalah ekstrak bawang putih terfermentasi dengan konsentrasi 16%. Ekstrak bawang putih terfermentasi memberikan diameter zona hambat *S. aureus* paling besar pada konsentrasi 16%, yaitu $14,00 \pm 0,71$ mm dan diameter zona hambat *E. coli* sebesar $7,50 \pm 0,71$ mm. Ekstrak bawang putih terfermentasi lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. *E. coli* lebih resisten terhadap ekstrak bawang putih terfermentasi dibandingkan *S. aureus* karena membran terluar *E. coli* memiliki kemampuan untuk mengubah sifat hidrofobik dan

mengalami mutasi pada bagian porin sehingga komponen aktif maupun asam laktat dari bawang putih terfermentasi tidak dapat masuk ke dalam sel *E. coli* (Breijyeh *et al.*, 2020).

Menurut penelitian Yadav *et al.* (2015), ekstrak bawang putih terfermentasi pada konsentrasi 16% memiliki diameter zona hambat *S. aureus* yang hampir sama dengan ekstrak bawang putih biasa pada konsentrasi 25%, yaitu sebesar 15,56 mm. Ekstrak bawang putih terfermentasi pada konsentrasi 16% memiliki diameter zona hambat *E. coli* hampir sama dengan ekstrak bawang putih biasa pada konsentrasi 5%, yaitu sebesar 6,28 mm.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses fermentasi yang dapat menurunkan aroma tajam pada bawang putih membutuhkan waktu selama 72 jam dengan rasio *R. oryzae*:*L. bulgaricus* yang terpilih adalah 1:1. Nilai pH dan TAT dari bawang putih terfermentasi adalah $3,72 \pm 0,05$ dan $0,53 \pm 0,01\%$. Total BAL dalam bawang putih terfermentasi sebanyak $6,18 \pm 0,04$ CFU/ml, total kapang sebanyak $8,21 \pm 0,09$ CFU/ml, dan TPC sebanyak $8,33 \pm 0,22$ CFU/ml. Penurunan luas area *peak* GC-MS komponen *diallyl disulfide* dan *diallyl trisulfide* sebesar 7,5% dan 18,42% menyebabkan penurunan aroma pada bawang putih terfermentasi yang ditandai dengan hasil organoleptik. Bawang putih yang difermentasi sedikit tidak beraroma bawang putih ($2,89 \pm 0,26$) dengan tingkat penerimaan keseluruhan sedikit tidak suka ($3,52 \pm 1,41$).

Ekstrak bawang putih terfermentasi efektif sebagai pengawet pangan pada konsentrasi 16% dan lebih efektif menghambat *S. aureus* ($14,00 \pm 0,71$ mm) dibandingkan *E. coli* ($7,50 \pm 0,71$ mm). Ekstrak bawang putih terfermentasi mengandung senyawa fenolik ($2,46 \pm 0,12$ mgGAE/g), flavonoid ($0,24 \pm 0,001$ mgQE/g), 2,3-butanediol (17,33%), *L-lactic acid* (80,94%), *diallyl disulfide* (0,74%), dan *diallyl trisulfide* (0,99%). Komponen aktif tersebut dapat berperan sebagai senyawa antibakteri, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan.

Daftar Pustaka

Adebo, O. A. dan Meza, I. G. M. 2020. Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of

whole cereal grains: a mini review. *Molecules*, 25(927):1-19.

Ahmed, H., Nawel, O., Djilali, B., dan Karima, O. Y. 2017. Lactic acid production by *Lactobacillus bulgaricus* from MRS medium without and with replacement of glucose by date and carob pod powders. *Scientific Federation Journal of Chemical Research*, 1(2):1-7.

Aminah, Tomayahu, N., dan Abidin, Z. 2017. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2):226-230.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. 19th ed. AOAC, Inc., Washington.

Atma, Y. 2016. Angka lempeng total (ALT), angka paling mungkin (APM), dan total kapang khamir sebagai metode analisis sederhana untuk menentukan standar mikrobiologi pangan olahan posdaya. *Jurnal Teknologi*, 8(2):77-82.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2008. *Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Susu, Telur, serta Hasil Olahannya*. SNI 2897-2008. BSN., Jakarta.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. *Minuman Susu Fermentasi Berperisa*. SNI 7552-2009. BSN., Jakarta.

Balli, D., Bellumori, M., Pucci, L., Gabriele, M., Longo, V., Paoli, P., Melani, F., Mulinacci, N., dan Innocenti, M. 2020. Does fermentation really increase the phenolic content in cereals? a study on millet. *Foods*, 9(303):1-17.

Benabda, O., M'hir, S., Kasmi, M., Mnif, W., dan Hamdi, M. 2019. Optimization of protease and amylase production by *Rhizopus oryzae* cultivated on bread wasting using solid-state fermentation. *Journal of Chemistry*, 2019:1-9.

Breijyeh, Z., Jubeh, B., dan Karaman, R. 2020. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*, 25(6):1-23.

- Bureau of Indian Standards (BIS). 2019. *Dairy Products: Yoghurt*. Bureau of Indian Standards., New Delhi.
- Cantabrana, I., Perise, R., dan Hernández, I. 2015. Uses of *Rhizopus oryzae* in the kitchen. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2(2):103-111.
- Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., dan Zhao, G. 2017. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: a review. *International Journal of Food Properties*, 20(1):5316-5330.
- Codex Alimentarius Commission (CAC). 2018. *Codex Standard for Fermented Drinks*. Codex Alimentarius Commission., Roma.
- Darmapatni, K. A. G., Basori, A., dan Suaniti, N. M. 2016. Pengembangan metode GC-MS untuk penetapan kadar *acetaminophen* pada spesimen rambut manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3):255-269.
- Endrawati, D. dan Kusumaningtyas, E. 2017. Beberapa fungsi *Rhizopus sp.* dalam meningkatkan nilai nutrisi bahan pakan. *Wartazoa*, 27(2):81-88.
- Food Standards Australia and New Zealand (FSANZ). 2016. *Nutrition and Health Related Claims*. Food Standards Australia and New Zealand., Canberra.
- Fu, Y. Q., Yin, L. F., Zhu, H. Y., dan Jiang, R. 2016. High-efficiency L-lactic acid production by *Rhizopus oryzae* using a novel modified one-step fermentation strategy. *Bioresource Technology*, 218:410-417.
- Hermansyah, H., Andikoputro, M. I., dan Alatas, A. 2019. Production of lipase enzyme from *Rhizopus oryzae* by solid state fermentation and submerged fermentation using wheat bran as substrate. *AIP Conference Proceedings*, 2085:1-6.
- Ibarruri, J. dan Hernández, I. 2017. *Rhizopus oryzae* as fermentation agent in food derived sub-products. *Waste and Biomass Valorization*, 9:1-9.
- Kuete, V. 2017. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: therapeutic potential against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases*. 1st ed. Elsevier, Inc., London.
- Kurniati, T., Nurlaila, L., dan Iim. 2017. Effect of inoculum dosage *Aspergillus niger* and *Rhizopus oryzae* mixture with fermentation time of oil seed cake (*Jatropha curcas* L.) to the content of protein and crude fiber. *Journal of Physics: Conference Series*, 824:1-8.
- Lee, J. B., Joo, W. H., dan Kwon, G. S. 2016. Biological activities of solid-fermentation garlic with lactic acid bacteria. *Journal of Life Science*, 26(4):446-452.
- Marjoni, M. R., Afrinaldi, dan Novita, A. D. 2015. Kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 23(3):187-196.
- Matsutomo, T. 2020. Potential benefits of garlic and other dietary supplements for the management of hypertension (review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(2):1479-1484.
- Met, A. dan Yesilcubuk, N. S. 2017. Comparison of two volatile sampling techniques based on different loading factors in determination of volatile organic compounds released from spoiled raw beef. *Food Analytical Methods*, 10(7):2311-2324.
- Nakamoto, M., Kunimura, K., Suzuki, J. I., dan Kodera, Y. 2020. Antimicrobial properties of hydrophobic compounds in garlic: allicin, vinylidithiin, ajoene and diallyl polysulfides (review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19:1550-1553.
- Nikolić, S. S., Dimić, G., Mojović, L., Pejin, J., Vuković, A. D., dan Tanakov, S. K. 2015. Antimicrobial activity of lactic acid against pathogen and spoilage microorganisms. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5):990-998.
- Novidahlia, N., Amalia, L., dan Hidayat, A. W. 2015. Rasio tepung terigu dan tepung sukun terhadap sifat kimia dan organoleptik mi basah. *Jurnal Agroindustri Halal*, 1(1):39-46.

- Rahman, I. R., Nurkhasanah, dan Kumalasari, I. 2019. Optimasi komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada yogurt terfortifikasi buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 6(2):99-106.
- Rahmiati dan Mumpuni, M. 2017. Eksplorasi bakteri asam laktat kandidat probiotik dan potensinya dalam menghambat bakteri patogen. *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*, 3(2):141-150.
- Rombouts, J. L., Kranendonk, E. M. M., Regueira, A., Weissbrodt, D. G., Kleerebezem, R., dan Loosdrecht, M. C. M. V. 2020. Selecting for lactic acid producing and utilising bacteria in anaerobic enrichment cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 117(5):1281-1293.
- Salima, J. 2015. Antibacterial activity of garlic (*Allium sativum* L.). *Jurnal Majority*, 4(2):30-39.
- Soltan, H. R., Ahmed, S. M., dan Emam, D. A. 2016. Comparative antibacterial activity of garlic essential oil extracted by hydro-distillation and diethyl ether extraction methods on four pathogenic bacteria. *Advance in Plants & Agriculture Research*, 4(2):261-264.
- Sorensen, K. I., Bawden, M. C., Junge, M. P., Janzen, T., dan Johansen, E. 2016. Enhancing the sweetness of yoghurt through metabolic remodeling of carbohydrate metabolism in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(12):3683-3692.
- Takano, M. dan Hoshino, K. 2016. Lactic acid production from paper sludge by SSF with thermotolerant *Rhizopus* sp. *Bioresources and Bioprocessing*, 3(29):1-10.
- Thomas, E. B., Nurali, E. J. N., dan Tuju, T. D. J. 2017. Pengaruh penambahan tepung kedelai (*Glycine max* L.) pada pembuatan biskuit bebas gluten bebas kasein berbahan baku tepung pisang goroho (*Musa acuminata* L.). *Cocos*, 1(7):1-18.
- Yadav, S., Trivedi, N. A., dan Bhatt, J. D. 2015. Antimicrobial activity of fresh garlic juice: an in vitro study. *Ayu*, 36(2):203-207.
- Yi, H. S., Ahn, Y. R., Song, G. C., Ghim, S. Y., Lee, S., Lee, G., dan Ryu, C. M. 2016. Impact of a bacterial volatile 2,3-Butanediol on *Bacillus subtilis* rhizosphere robustness. *Frontiers in Microbiology*, 7(993):1-11.
- Zhou, C. dan Fey, P. D. 2020. The acid response network of *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*, 55:67-73.