

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan berbagai suku dan budaya. Banyaknya suku yang terdapat di Indonesia menghasilkan variasi budaya dan kearifan lokal yang kaya, termasuk makanan tradisional (Cristine & Ramaloka, 2020). Salah satu contoh makanan fermentasi tradisional Indonesia adalah naniura (Prihanto *et al.*, 2024), yang merupakan hidangan khas masyarakat Batak di Sumatera Utara.

Naniura dihidangkan tanpa adanya proses pemasakan dengan api, melainkan melalui proses marinasi menggunakan campuran bumbu dan asam jungga (*Citrus jambhiri*). Senyawa asam yang terkandung dalam asam jungga berperan dalam denaturasi protein ikan, sehingga menghasilkan tekstur yang lebih lunak serta mengurangi aroma amis. Proses pengolahan ini menciptakan kondisi yang memungkinkan terjadinya fermentasi alami dan pertumbuhan mikroorganisme, terutama bakteri asam laktat (BAL) (Simanjuntak & Naibaho, 2024). Prinsip pengolahan naniura dengan merendam ikan pada asam hingga daging ikan menjadi lunak kemudian direndam dalam bumbu khas naniura yang sudah dihaluskan (Pakpahan *et al.*, 2020).

Fermentasi pada naniura berlangsung secara spontan karena dalam proses pembuatannya tidak ditambahkan mikroorganisme khusus sebagai starter, tetapi mikroorganisme yang ada pada bahan baku dan lingkungan berkembang biak secara alami selama proses berlangsung. Bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasi naniura bersumber dari bahan baku, bumbu tambahan, serta lingkungan proses fermentasi (Rahmadi, 2019). Studi isolasi mikrobiologis menunjukkan bahwa BAL seperti *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* dapat berasal dari mikroflora alami yang terdapat pada ikan mentah (Sahagún-Aguilar *et al.*, 2022).

Selain ikan sebagai bahan utama, bumbu yang digunakan dalam pembuatan naniura seperti jeruk jungga, andaliman, bawang putih, jahe, dan rempah lain juga berkontribusi sebagai sumber BAL. Bumbu-bumbu ini secara alami dapat

membawa mikroba yang menempel selama proses panen, penanganan, maupun penyimpanan. Ibrahim *et al.* (2020) melaporkan bahwa penggunaan rempah segar dapat meningkatkan keanekaragaman dan jumlah populasi BAL pada proses fermentasi produk ikan. Hal ini disebabkan rempah tidak hanya berfungsi sebagai penambah cita rasa, tetapi juga berperan sebagai pembawa mikroflora fermentatif alami. Pada naniura jeruk tidak hanya memberikan rasa asam, tetapi juga menciptakan kondisi pH rendah yang menguntungkan pertumbuhan BAL (Tropea *et al.*, 2021). Selain itu, penggunaan bumbu tradisional seperti asam jungga turut berkontribusi terhadap keberagaman BAL (Ma'ruf *et al.*, 2025).

Beberapa studi menunjukkan bahwa kondisi asam dan kaya nutrisi pada naniura menciptakan habitat ideal untuk pertumbuhan BAL. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Simanjuntak & Naibaho, 2024) terdapat 108 cfu/gr Bakteri Asam Laktat (BAL) pada naniura. Temuan ini diperkuat oleh Nasution *et al.* (2022) yang berhasil mengisolasi tiga strain BAL (UB1, UB2, UB3) dari naniura yang mampu memproduksi eksopolisakarida (EPS) dalam jumlah tinggi, yaitu antara 2.490–3.490 mg/L, yang mengindikasikan aktivitas metabolik yang tinggi dari BAL dalam produk tersebut. Sementara itu, kajian literatur oleh Hang (2021) menjelaskan bahwa proses fermentasi naniura yang melibatkan asam dan garam secara alami menciptakan habitat ideal bagi pertumbuhan BAL, sekaligus menghambat mikroorganisme patogen seperti *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*.

Bakteri asam laktat (BAL) berperan penting dalam fermentasi makanan karena kemampuannya memetabolisme gula dan menghasilkan asam laktat, yang berkontribusi pada pengawetan dan pembentukan karakteristik makanan baik rasa maupun nilai gizi makanan (Soleha & Retnaningrum, 2020). Dalam proses fermentasi, bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat sebagai produk utama, dengan karakteristik gram positif, tidak membentuk spora, serta bersifat anaerob fakultatif yang meliputi berbagai spesies dan strain, seperti *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus* (Fauziyah *et al.*, 2023).

Selain sebagai agen fermentasi, BAL memiliki potensi besar sebagai probiotik (Risna *et al.*, 2022). Mekanisme kerja BAL sebagai probiotik melibatkan

interaksi dengan mikroba lain di dalam usus dan produksi senyawa yang mendukung kesehatan (Nasution *et al.*, 2022). Selain itu, BAL juga memproduksi senyawa antimikroba (Karyawati *et al.*, 2024) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Falakh & Asri, 2022; Komara *et al.*, 2022), menjadikannya sebagai preservatif alami yang aman bagi makanan (Yulvizar *et al.*, 2022).

Identifikasi mikroorganisme pada makanan naniura hingga kini masih menggunakan pendekatan konvensional, seperti isolasi berbasis kultur dan analisis biokimia, yang diketahui memiliki sejumlah keterbatasan. Metode ini hanya mampu mendeteksi mikroba yang dapat dikultur, sementara sebagian besar mikroorganisme di lingkungan alami bersifat nonkultural (*unculturable bacteria*) yang mungkin justru memainkan peran penting dalam proses fermentasi serta memiliki potensi dalam kesehatan. Selain itu, metode konvensional cenderung kurang efektif dalam membedakan spesies dengan karakteristik fenotipik yang mirip, serta tidak dapat menjelaskan hubungan antar mikroba serta kurangnya data genetika untuk memprediksi potensi fungsional BAL. Misalnya penelitian yang dilakukan pada isolat BAL 18A, identifikasi dilakukan melalui uji konvensional seperti pewarnaan gram dan uji katalase, serta menggunakan kit API 50 CH untuk menentukan spesies (Suardana *et al.*, 2018). Namun, metode ini memiliki keterbatasan dalam hal akurasi.

Hasil penelitian yang dilakukan pada pasien sepsis oleh Lee *et al.* (2022), kultur darah secara konvensional hanya mampu mendeteksi mikroorganisme pada 37,5% kasus, sementara *Next Generation Sequencing* (NGS) berhasil mendeteksi mikroorganisme pada 47,9% pasien, dengan sensitivitas NGS mencapai 62,5% dibandingkan kultur yang hanya 14,5% ($P < 0,001$). Penelitian ini juga menegaskan kemampuan NGS mendeteksi mikroorganisme sulit kultur seperti *Pneumocystis jirovecii* dan *Leptospira interrogans*, yang tidak terdeteksi dengan metode kultur konvensional yang membuktikan bahwa kultur darah memiliki keterbatasan sensitivitas yang signifikan. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2024) terhadap 500 pasien menunjukkan bahwa metode kultur konvensional hanya mampu mendeteksi pertumbuhan bakteri pada 26,8% ($n=134$) sampel, sedangkan metode NGS melalui *Bactfast* berhasil mengidentifikasi bakteri pada 38,2%

(n=191) sampel, termasuk bakteri nonkulturabel yang tidak terdeteksi oleh metode konvensional. Selain itu, NGS juga mampu mengidentifikasi tambahan 33 patogen yang tidak terdeteksi melalui kultur, seperti *Bacteroides fragilis*, *Aerococcus viridans*, *Elizabethkingia anopheles*, *Aeromonas salmonicida*, *Clostridium*, dan *Bacteroides vulgatus*. Hal ini menunjukkan sensitivitas NGS yang lebih tinggi serta kemampuannya dalam mendeteksi keberagaman mikroorganisme, termasuk yang sulit tumbuh di media kultur.

Penelitian yang dilakukan oleh Marasco *et al.*, (2022) metode *Next Generation Sequencing* (NGS) terbukti lebih unggul dibandingkan metode kultur konvensional dalam mengidentifikasi keberagaman mikroba pada *natural whey starter* (NWS) yang digunakan dalam produksi keju mozzarella dan caciocavallo di Italia Selatan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut meskipun kedua pendekatan baik kultur dependen maupun kultur independent berhasil mendeteksi lima spesies BAL pada masing-masing jenis NWS, dua spesies penting, yaitu *Lactobacillus helveticus* dan *Lactobacillus delbrueckii*, hanya terdeteksi melalui analisis NGS. Selain itu, penelitian yang dilakukan terhadap limbah cair whey keju oleh Estikomah *et al.* (Estikomah *et al.*, 2024) analisis NGS mengidentifikasi rata-rata 259 OTU termasuk genus *Lactobacillus* yang tidak dapat tumbuh pada media kultur. Selain itu, pendekatan metagenomik berbasis NGS juga telah diterapkan untuk mengungkap keberagaman mikroba pada bahan pangan alami lainnya. Gultom *et al.* (2024) meneliti buah ara (*Ficus carica* L.). Penelitian ini menunjukkan bahwa metode berbasis gen 16S rRNA berhasil mengidentifikasi berbagai spesies bakteri, termasuk *Weissella ghanensis*, *Weissella paramesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, dan *Lactococcus lactis*, yang menawarkan potensi sumber alami untuk melawan resistensi antibakteri. Hal ini menegaskan bahwa NGS mampu mengungkap komunitas bakteri secara lengkap, termasuk mikroba nonkultur.

Penelitian mengenai identifikasi bakteri asam laktat terhadap makanan fermentasi menggunakan metode *Next Generation Sequencing* (NGS) telah dilakukan di beberapa jenis makanan fermentasi lainnya, seperti pada masin (Manguntungi *et al.*, 2020) menunjukkan bahwa kelimpahan relatif bakteri di masin untuk ordo takson adalah *Lactobacillales*, takson famili adalah *Enterococcaceae*,

dan genus adalah *Tetragenococcus*. Penelitian dilakukan oleh (Marlida *et al.*, 2023) pada fermentasi tradisional dari berbagai Ikan Budu, Pariaman (ikan segar) dan Pasaman (ikan beku) menunjukkan bahwa keanekaragaman bakteri hampir tidak berbeda. Kedua Budu tersebut ditemukan bakteri asam laktat dari famili Enterococcaceae, genus *Vagococcus*, dan bakteri patogen, seperti *S. cohnii*, *P. russeli*, *C. disporicum*, dan *S. baltica*. Selain itu, penelitian mengenai identifikasi bakteri asam laktat menggunakan metode *Next Generation Sequencing* (NGS) telah dilakukan pada makanan kimchi (Jung *et al.*, 2022) dan yogurt (Yuqian *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa penerapan *Next Generation Sequencing* (NGS) dalam identifikasi bakteri asam laktat (BAL) menghasilkan representasi menyeluruh mengenai diversitas dan dinamika komunitas mikroba dalam makanan fermentasi. Temuan ini mendukung penggunaan pendekatan metagenomik dengan NGS pada penelitian naniura untuk mengungkap spesies bakteri yang mungkin tidak terdeteksi melalui metode konvensional.

Pendekatan metagenomik menghasilkan informasi komunitas mikroba secara utuh menunjukkan bahwa identifikasi genotipik menghasilkan informasi yang lebih dapat diandalkan dibandingkan dengan metode konvensional maupun fenotipik (Lee *et al.*, 2022). Dengan mempertimbangkan keterbatasan metode konvensional dan keunggulan metode NGS penerapan teknologi NGS sangat diperlukan sebagai metode yang lebih efektif, akurat, dan komprehensif dalam mengidentifikasi bakteri asam laktat. Tidak hanya itu, pemetaan BAL dari naniura melalui NGS juga membuka peluang eksplorasi fungsi BAL sebagai probiotik dan agen pengawet alami yang potensial, maupun pengembangan *starter culture* untuk fermentasi makanan lain.

1.2 Identifikasi Masalah

1. Penelitian mengenai keanekaragaman Bakteri Asam Laktat dalam makanan tradisional naniura masih sebatas menggunakan metode konvensional, sehingga diperlukan metode yang lebih komprehensif mengidentifikasi seluruh bakteri asam laktat pada makanan tersebut.
2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat naniura masih menggunakan metode konvensional, belum menggunakan pendekatan metagenomic dengan *Next Generation Sequencing*
3. Terbatasnya informasi mengenai spesies dan strain bakteri asam laktat (BAL) yang ada dalam naniura beserta potensinya.

1.3 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini mencakup isolasi dan identifikasi Bakteri Asam Laktat dari sampel naniura yang dibuat oleh peneliti. Penelitian ini juga akan mencakup analisis mikrobioma menggunakan metode *Next Generation Sequencing* (NGS) untuk mendapatkan gambaran yang lebih eksploratif tentang keberagaman BAL. Fokus utama penelitian ini adalah pada spesies dan strain BAL yang teridentifikasi yang dapat diperoleh dari makanan fermentasi naniura.

1.4 Batasan Masalah

1. Penelitian hanya akan berfokus pada identifikasi BAL dari naniura, tanpa membahas aspek lain dari makanan fermentasi.
2. Sampel naniura yang digunakan merupakan hasil olahan sendiri yang terbuat dari bahan baku ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*), serta tidak mencakup variasi naniura yang berasal dari daerah lain.
3. Analisis mikrobioma akan dilakukan menggunakan teknologi NGS, dan tidak akan mencakup metode konvensional lainnya.

1.5 Rumusan Masalah

Apa saja spesies bakteri asam laktat yang dapat diidentifikasi dari makanan fermentasi tradisional naniura dengan menggunakan metode metagenomik dengan pendekatan *Next Generation Sequencing* (NGS)

1.6 Tujuan Penelitian

Mengidentifikasi dan menganalisis keberagaman spesies bakteri asam laktat (BAL) dari makanan fermentasi tradisional naniura dengan menggunakan metode metagenomik dengan pendekatan *Next Generation Sequencing* (NGS).

1.7 Manfaat Penelitian

1. Secara ilmiah, penelitian ini dapat memperkaya pengetahuan tentang mikrobioma makanan fermentasi tradisional, khususnya naniura.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna bagi pengembangan produk pangan berbasis probiotik yang lebih sehat.

