

Kemampuan Susu Fermentasi *Lactobacillus plantarum* Menghambat *Salmonella typhimurium* Secara In Vitro

(The ability of *Lactobacillus plantarum* fermented milk to inhibit *Salmonella typhimurium* in vitro)

Zuraida Hanum¹

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

ABSTRACT This research used *Lactobacillus plantarum* as a milk starter (concentration 3, 4, 5 %) and incubated for 48 hours at room temperature. Observation fermented begin from the first day of this product until 7 days and its still stored at room temperature. First analysis conducted on milk in this research were Storch, pH, acidity titration, fat, and dry matter. Milk fermentation analysis of *Lactobacillus plantarum* including pH, degree of dornik acidity and microbe activity test. Experimental design used is Repeated Measurement with three replications. Data collected analyzed by ANOVA test. If there is significant different between treatments, followed by Least Significant Test. Complete pasteurization result test (Storch) found that milk stay white, it means that

peroksidase enzyme completely disappear and milk completely pasturization. The ability of suppressing observed by *Salmonella typhimurium* in Nutrient Agar and challenge with *Lactobacillus plantarum* fermented milk 3%, 4% and 5% (50 µl/well). Tetracycline, chloramphenicol and a plain paper disc are used as control. *Lactobacillus plantarum* fermented milk of starter concentration 5%-first day has the biggest inhibition zone by *Salmonella typhimurium* (9.39 mm). Range of pH showed between 4.84 to 4.14 and the acidity between 114.67 °D to 365.67 °D. Sensitivity test showed that *Salmonella typhimurium* more sensitive than chloramphenicol and tetracycline antibiotic.

Key words : Fermented Milk, *Lactobacillus plantarum* and *Salmonella typhimurium*

2010 Agripet : Vol (10) No. 2: 34-39

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan pangan sumber protein hewani dengan kandungan gizi lengkap. Gangguan pencernaan berupa kembung dan diare yang timbul setelah mengkonsumsi susu, biasanya disebabkan adanya akumulasi laktosa yang tidak terurai menjadi monosakarida yakni glukosa dan galaktosa dalam saluran pencernaan, yang dikenal dengan istilah *lactose intolerance*.

Susu fermentasi didefinisikan sebagai produk susu yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan *flavour*, warna, tekstur dan konsistensi yang diinginkan dan mampu mencegah *lactose intolerance* (Vinderola *et al.*, 2002). Di wilayah bekas kekuasaan Uni Sovyet terdapat lebih dari 200 jenis susu fermentasi seperti *Prostokvasha*, *Caucasian kefir*, *Matsum*, *Syuzma* dan lain-lain. Dari

Arab Saudi dikenal nama *Torba*, *Kurut*, di Irak dikenal dengan *Leben* dan *Kushuk*, dari Iran terdapat *Daough* dan *Kashk*, di Libanon dikenal *Laban*, *Jamid* dan *Rawbah*, selanjutnya dari Finlandia ada *Villi* dan *Vellia*, dari Eropa Timur ada *Yoghurt* dan *Bulgarian milk*. Produk-produk susu dari Asia adalah *Koumiss*, *Shubat*, *Dahi*, *Susu fermentasi* dan banyak lagi produk fermentasi lainnya (Kanbe, 1992).

Jenis mikroba yang memegang peranan penting dalam proses fermentasi susu digolongkan sebagai bakteri asam laktat (BAL), yaitu beberapa spesies dari *Streptococcus* dan *Lactobacillus*. Asam laktat sebagai salahsatu asam organik, dapat dihasilkan secara alami oleh tumbuhan maupun hewan. Asam organik merupakan bahan *preservasi* makanan yang aman digunakan (Lin *et al.*, 2002).

Sejak ditemukannya berbagai keuntungan mengkonsumsi minuman yang mengandung asam laktat terhadap perkembangan

Corresponding author: zuraidahanum@gmail.com

mikroflora dalam saluran pencernaan, BAL sering digunakan sebagai kultur starter untuk memfermentasi susu (Svenson, 1992).

Elida (2002) mengatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* tergolong bakteri asam laktat homofermentatif yang tumbuh pada suhu 15 - 37 °C, masih dapat tumbuh pada pH 3.0-4.6, dengan ciri-ciri sel berbentuk batang pendek, warna koloni putih susu sampai abu-abu, serta mempunyai *viabilitas* tinggi untuk digunakan sebagai starter.

Di Nigeria, *L. plantarum* yang diisolasi dari makanan fermentasi mampu memproduksi bakteriosin dan mampu menghambat aktivitas beberapa bakteri patogen. Bakteriosin yang diproduksi dari *L. plantarum* dihasilkan pada suhu 20 - 30 °C (Ogunbawo *et al.*, 2003). Sedangkan di Jerman, *L. plantarum* juga ditemukan dalam makanan seperti es krim rendah lemak dan bubur gandum yang difermentasi dengan pemberian flavor aneka rasa seperti *strawberry* dan *blueberry*. Penambahan *L. plantarum* pada bubur gandum sebanyak 5×10^7 CFU/ml, memperlihatkan potensial menghambat bakteri patogen dan membantu kerja saluran pencernaan (Gabby dan Matt, 2002).

Gangguan saluran pencernaan sering terjadi akibat pencemaran oleh golongan *Enterobacteriaceae* terutama *Salmonella*. Hal ini sering terjadi di negara Berkembang yang kurang memperhatikan sanitasi. Salmonellosis

dapat terjadi dimana-mana, terutama di daerah beriklim tropis.

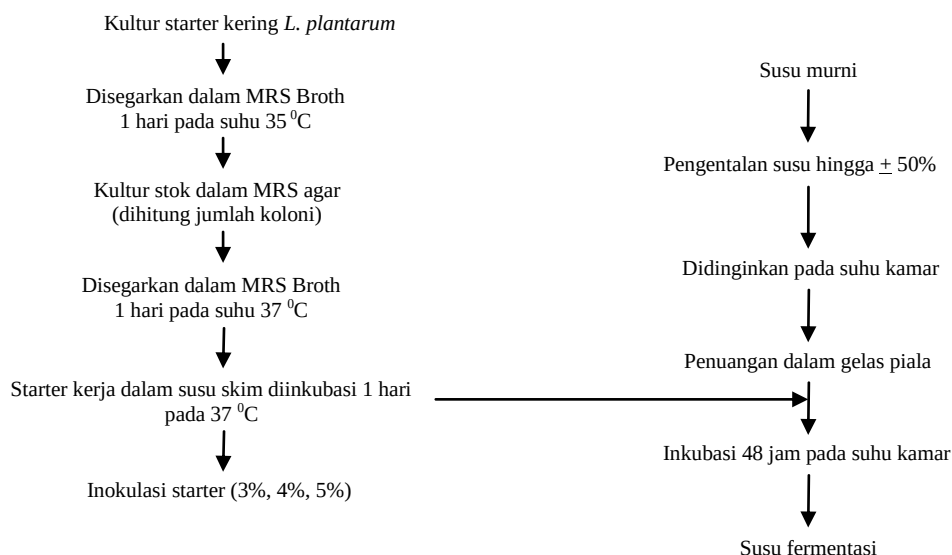
Dalam produk pangan bakteri asam laktat tidak berbahaya bagi kesehatan dan memenuhi status *Generally Recognize as Safe* (GRAS). Sifat antimikroba yang dimiliki bakteri asam laktat disebabkan ketersediaan nutrisi yang cocok, sehingga unggul dalam persaingan dengan bakteri patogen (Surono, 1999).

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Departemen Kitwan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar dari Rumah Sakit Hewan, FKH-IPB, media *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) (CM 359 Oxoid) dan lainnya. Isolat bakteri yang digunakan *Lactobacillus plantarum* BCC B2249 dan kultur bakteri patogen yang digunakan *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

Penelitian ini meliputi dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan metode pembuatan susu fermentasi yang paling sesuai yang akan digunakan pada penelitian utama. Gambar 1 memperlihatkan proses persiapan starter yang digunakan dalam pembuatan susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*.



Gambar 1. Skema proses persiapan starter dan pembuatan susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*

Pada penelitian pendahuluan, digunakan isolat dalam bentuk kering beku, sedangkan untuk penelitian utama disimpan dalam MRS Broth dan starter kerja dalam skim.

Penelitian utama bertujuan untuk mengetahui daya hambat susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap *Salmonella typhimurium* secara in vitro dan mengetahui sensitivitas *Salmonella typhimurium* yang digunakan dalam penelitian terhadap antibiotika. Susu yang akan digunakan penelitian, akan diuji terlebih dahulu terhadap kesempurnaan pasteurisasi (uji Storch).

Analisis awal dilakukan pada susu yang digunakan dalam penelitian meliputi: uji Storch, uji pH, titrasi keasaman, kadar lemak, uji berat jenis dan kadar bahan kering. Analisis susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* meliputi pH, derajat keasaman dornik dan pengujian aktivitas mikroba.

Rancangan percobaan yang dipergunakan adalah rancangan percobaan dengan pengamatan berulang (*Repeated Measurement*) dengan tiga kali ulangan. Peubah yang diamati yaitu konsentrasi starter (3%, 4%, 5%) dan waktu penyimpanan sebagai perlakuan berulang (0 hari sampai dengan 7 hari).

Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis sidik ragam ANOVA. Bila diantara perlakuan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dan ($p < 0,01$), maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Hasil pengujian terhadap antibiotika disajikan dalam bentuk grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada analisis awal diperoleh kualitas susu yang digunakan sebelum fermentasi tertera pada Tabel 1.

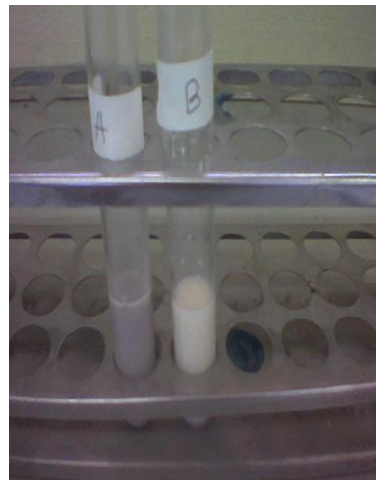
Uji organoleptik susu yang digunakan untuk pembuatan fermentasi susu *Lactobacillus plantarum* telah sesuai dengan syarat normal susu (menurut Kodeks susu). Hasil pengujian kesempurnaan pasteurisasi (uji Storch) ditemukan susu tetap berwarna putih, hal ini menandakan enzim peroksidase telah musnah dan susu telah mengalami pasteurisasi sempurna.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Karakteristik Susu Sebelum Proses Pembuatan fermentasi Susu *Lactobacillus plantarum*

No	Pemeriksaan	Pengamatan susu segar	Pengamatan susu setelah pasteurisasi
1	Organoleptik: -warna -bau dan rasa -konsistensi	- putih kekuningan - khas susu, agak manis -encer	-putih -khas susu, agak manis -kental
2	pH	6.59	6.45
3	Derajat asam(⁰ D)	14.6	17.68
4	Kadar Lemak(%)	3.5	5.3
5	Berat Jenis	1.026	1.041
6	Bahan Kering (%)	11.44	17.77
7	Kadar Air (%)	64.50	

Hasil pengujian kesempurnaan pasteurisasi (uji Storch) ditemukan susu tetap berwarna putih, hal ini menandakan enzim peroksidase telah musnah dan susu telah mengalami pasteurisasi sempurna.

Nilai pH yang diperoleh berdasarkan pengamatan sesuai dengan sifat fisik susu segar yang dinyatakan oleh Soejodono (1999) sebesar 6.5 sampai dengan 6.7. Susu yang digunakan dalam batas normal yang dinyatakan oleh (Soejodono 1999) sebesar 15-18⁰ D dan yang dinyatakan (Niro, 2000) sebesar 14 - 17⁰ D.



Gambar 2. Hasil uji Storch (a): Susu Mentah berwarna biru (b): Susu Setelah Pemanasan berwarna putih.

pH Susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*

Nilai pH yang diperoleh dari susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang dikaitkan dengan konsentrasi starter dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai pH susu fermentasi dikaitkan dengan konsentrasi starter dan lama penyimpanan

% Starter	Waktu penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
3	4.84 ^d	4.62 ^c	4.51 ^{bc}	4.54 ^{bc}	4.16 ^a	4.43 ^b	4.17 ^a	4.17 ^a
4	4.72 ^d	4.58 ^{cd}	4.46 ^{bc}	4.46 ^{bc}	4.39 ^{ab}	4.24 ^a	4.76 ^d	4.41 ^{abc}
5	4.73 ^d	4.59 ^d	4.53 ^c	4.42 ^b	4.76 ^c	4.52 ^c	4.15 ^a	4.14 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama berarti berbeda tidak nyata

Tabel 2 memperlihatkan bahwa faktor konsentrasi starter dan waktu penyimpanan berpengaruh nyata terhadap nilai pH. Susu fermentasi starter 3 % pH terendah dicapai pada hari ke - 4, ke -6 dan ke - 7. Susu fermentasi konsentrasi 4% pH terendah adalah hari ke - 5 sedangkan susu fermentasi starter 5% nilai pH terendah terjadi pada hari ke - 7, adanya kenaikan pH seiring dengan rusaknya susu fermentasi Hal ini ditandai dengan pecahnya padatan dalam susu fermentasi, tekstur yang berubah menjadi kasar, meningkatnya cairan yang memisah dari padatan dan timbulnya bau yang kurang sedap.

Derajat Keasaman (⁰Dornik) Susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*

Dalam pengukuran pH yang terukur sebenarnya adalah konsentrasi ion hidrogen yang ada pada saat itu, yaitu bentuk terdisosiasi. Sedangkan dalam pengukuran total asam yang terukur adalah jumlah hidrogen total, baik dalam bentuk yang terdisosiasi dan tidak terdisosiasi, sehingga nilai pH berbanding terbalik dengan total keasaman (Cahyadi *et al.*, 1995).

Lee dan Wong (1998) menyatakan penurunan pH susu fermentasi, akan meningkatkan jumlah total asam yakni hasil penguraian laktosa menjadi asam laktat.

Perubahan Keasaman (⁰D) susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang dikaitkan dengan konsentrasi starter dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai keasaman (⁰D) susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* dikaitkan dengan konsentrasi starter dan lama penyimpanan

% Starter	Waktu penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
3	14.67 ^a	129.67 ^a	128.67 ^a	170.67 ^b	168.67 ^b	214.00 ^c	189.00 ^{bc}	277.67 ^d
4	1.33 ^a	142.67 ^a	190.00 ^b	224.00 ^c	280.00 ^c	254.67 ^d	339.67 ^d	358.00 ^e
5	1.67 ^a	172.33 ^b	212.00 ^c	226.67 ^{cd}	242.00 ^d	338.33 ^e	354.67 ^{ef}	365.67 ^f

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama berarti berbeda tidak nyata

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang diberikan dan waktu penyimpanan sangat mempengaruhi terhadap nilai total keasaman dalam susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang dihasilkan (Tabel 3). Semakin tinggi konsentrasi starter dan lama penyimpanan yang dilakukan meningkatkan jumlah total asam pada susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*.

Sudarwanto dan Lukman (1993) menyatakan susu fermentasi (yoghurt) mempunyai derajat asam berkisar antara 45 – 55 ⁰SH. Jika angka ini dikonversikan kedalam derajat asam dornik diperoleh 112.5 - 137.5 ⁰D , sehingga jika dibandingkan pada susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang dihasilkan, pemberian konsentrasi starter optimum dicapai pada tingkat 3%, sedangkan pada waktu penyimpanan dicapai pada hari ke 0. Hal ini menyimpulkan bahwa dengan konsentrasi 3% dan lama waktu penyimpanan 0 hari diperoleh susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* dengan kualitas terbaik. Waktu penyimpanan akan meningkatkan nilai total asam pada susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*.

Daya Hambat Susu Fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap *Salmonella typhimurium*

Hasil pengamatan, ditemukan adanya daya hambat susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *S. typhimurium*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Secara statistik terlihat perlakuan konsentrasi starter yang ditambahkan dan lamanya penyimpanan yang dilakukan, tidak berpengaruh nyata pada daya hambat susu

fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap *S. typhimurium*.

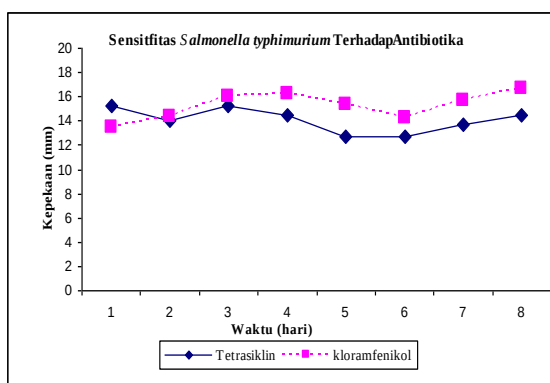
Tabel 4. Daya hambat dadih dikaitkan dengan konsentrasi starter dan lama penyimpanan terhadap *Salmonella typhimurium* (mm)

% Starter	Waktu penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
3	7.25	6.06	6.75	6.07	5.15	4.28	4.02	3.75
4	8.10	7.20	7.43	7.42	6.92	5.11	4.78	4.79
5	9.30	9.39	8.27	8.07	5.26	6.98	6.07	6.29

Untuk konsentrasi starter 3% diperoleh hari penyimpanan hari ke - 1 yang membentuk zona hambat tertinggi, sedangkan untuk konsentrasi 4%, zona hambat tertinggi juga diperoleh hari ke - 1. Konsentrasi starter yang paling paling baik digunakan dalam menghambat *S. typhimurium*, dadih dengan starter 5% dan waktu penyimpanan hari ke - 1 dengan zona hambatan sebesar terbentuk 9.39 mm, hal ini dimungkinkan dari total bakteri asam laktat yang terbentuk pada penambahan starter tertinggi.

Kontrol Antibiotika Kloramfenikol dan Tetrasiklin

Tingkat kepekaan bakteri *S. typhimurium* yang digunakan dalam penelitian ini terhadap Tetrasiklin dan kloramfenikol dengan menggunakan cakram 30 µg. Penggunaan kedua jenis antibiotika karena daya kerjanya yang luas dalam merusak ribosom dari bakteri patogen antara lain pada *S. typhimurium*.



Gambar 3 . Sensitifitas *Salmonella typhimurium* terhadap Tetrasiklin dan Kloramfenikol

Tingkat kepekaan yang diperoleh terhadap kedua jenis antiotika ini terlihat pada Gambar 3 di atas.

Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian masih menunjukkan sensitivitas terhadap antibiotika.

Terlihat kepekaan kloramfenikol yang digunakan dalam penelitian ini masih tinggi terhadap *Salmonella typhimurium*. Antibiotika kloramfenikol masih dipakai sebagai obat standar, dibandingkan antibiotik lainnya dalam kemampuannya membunuh kuman. Untuk strain kuman yang sensitif terhadap kloramfenikol, antibiotika ini memberikan efek klinis paling baik dibandingkan obat lain, tetapi kloramfenikol mempunyai efek toksik terhadap sumsum tulang (Karsinah *et a.*, 1994).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dadih susu sapi dapat menghambat laju pertumbuhan *Salmonella typhimurium* sebesar 9.39 mm. Kerusakan pada susu fermentasi *Lactobacillus plantraum* mulai terjadi pada hari ke 4, ditandai dengan meningkatnya kadar air dan tekstur dadih mulai pecah. Untuk tujuan kesehatan dianjurkan menggunakan dadih pada konsentrasi 5% tanpa penyimpanan atau dadih dengan konsentrasi starter 3% dengan penyimpanan sampai dengan hari ke-3 dalam suhu ruang.

Saran

Perlu disosialisasikan kepada masyarakat bahwa susu fermentasi *lactobacillus plantarum* baik digunakan untuk menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen spesies *Salmonella typhimurium*.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyadi, N., Sirait, C.H., Panggabean, T., Putu, I.G., 1995. Peningkatan mutu olahan dadih. Kumpulan Hasil-hasil Penelitian APBN 1994/1995. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor: 67-71.

- Elida, M., 2002. Profil bakteri asam laktat dari dadih yang difermentasi dalam berbagai jenis bambu dan potensinya sebagai probiotik [Tesis].Bogor. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Gabby, A.R., Matt, B., 2002. Documentation of *Lactobacillus plantarum* 299v. <http://www.newhope.com/new.cfm> [6 Okt 2004].
- Kanbe, M., 1992. Traditional fermented milk of the world. Di dalam : Nakazawa Y, Hosono ADN, editor. *Functions of Fermented Milk Challenges for the Health Science*. London and New York : Elsevier Science.
- Karsinah, Lucky, H.M., Suharto, Mardiasuti, H.W., 1994. Batang Negatif Gram, Ed revisi. Di dalam: Staf Pengajar FKUI, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta: UI-Pr.
- Lee, Y.K., Wong, S.F., 1998. Stability of Lactic Acid Bacteria In Fermented Milk. Di dalam: Salminen, Wright, editor. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Lin, M.C., Moon, S.S., Doyle, M.P., Watter, K.Y., 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O₁₅₇H₁₇, *Salmonella enteritica* Serotype enteritidis and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid with mild heat. *J Food Pro* 65:1215-1220.
- Vinderola, C.G., Mocchiutti, P., Reinheimer, J.A., 2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J Dairy Sci* 85: 721-729.