
PRODUKSI BAKTERIOSIN OLEH *Lactobacillus plantarum* DJ3 DAN APLIKASINYA SEBAGAI PENGAWET DAGING**Lilieek Hariani**Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**ABSTRACT**

Lactic acid bacteria (LAB) are able to inhibit other bacteria by producing protein, named as bacteriocin. Bacteriocin which produced by LAB is useful to inhibit pathogenic bacteria that harmful to human health or even makes food spoil. Bacteriocin is effective as antibacterial agent against pathogenic bacteria. Crude Extract of bacteriocin that produced by Lactobacillus plantarum DJ3 is able to inhibits the growth of E. Coli (4 mm) and S. aureus (5.33 mm). Application of bacteriocin in beef show that it able to inhibita the growth of bacteria. The amount of bacteria in beef that stored in 8 hours with bacteriocin addition are $1,3 \times 10^8$ CFU/g, and $3,7 \times 10^8$ CFU/g without bacteriocin addition. While the amount of bacteria in beef that stored in 12 hours with bacteriocin addition are $2,0 \times 10^9$ CFU/g and $1,5 \times 10^{11}$ without bacteriocin addition.

Key words : Bacteriocin, Lactobacillus plantarum DJ3, meat preservation

PENDAHULUAN

Penggunaan agensia pengawet kimia seperti formalin pada makanan walaupun di satu sisi dapat memperpanjang umur simpan makanan, namun dilain pihak keamanannya masih dipertanyakan. Residu bahan kimia yang tertinggal di dalam tubuh dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit diantaranya kanker (Nugroho dan Rahayu, 2003). Untuk mengatasi hal tersebut maka pemanfaatan bahan pengawet alami (biopreservasi) sangat potensial untuk diaplikasikan dalam pengawetan pangan (Ammor, *et al.*, 2006) karena dapat mengontrol pertumbuhan bakteri patogen secara alami dan aman (Mataragas, *et al.*, 2003).

Salah satu agen biopreservatif yang sangat potensial digunakan sebagai pengawet pangan adalah bakteriosin. Karena bakteriosin mampu mencegah pembusukan pangan dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteriosin mampu diproduksi oleh kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL). Beberapa galur Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat menghasilkan senyawa protein yang disebut bakteriosin, dan bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Tahara *et al.*, 1996). Bakteriosin dapat diproduksi oleh *Lactococcus*, *Lactobacillus* dan

Pediococcus yang berasal dari berbagai bahan makanan, misalnya nisin diproduksi oleh *Lactococcus lactis*, pediosin AcH dihasilkan *Pediococcus acidilactic*. Beberapa kelebihan bakteriosin sehingga potensial digunakan sebagai biopreservatif yaitu: (i) bukan bahan toksik dan mudah mengalami degradasi oleh enzim proteolitik karena merupakan senyawa protein; (ii) tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim saluran pencernaan; (iii) dapat mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai pengawet pangan; (iv) penggunaannya fleksibel; dan (v) stabil terhadap pH dan suhu yang cukup luas sehingga tahan terhadap proses pengolahan yang melibatkan asam dan basa, serta kondisi panas dan dingin (Cleveland *et al.*, 2001).

Pemakaian bakteriosin komersial sebagai biopreservatif sudah dilakukan di beberapa negara dan diaplikasikan pada beberapa jenis makanan. Di Indonesia salah satu yang telah mencoba penggunaan bakteriosin sebagai pengawet alami adalah Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian untuk pengawetan daging ayam dan hasil aplikasinya menunjukkan bahwa daging ayam dapat dipertahankan kesegarannya selama 18 jam, padahal daging ayam tanpa pengawet biasanya

bertahan segar selama 10 jam (bila penanganannya bersih) dan 6 jam (bila penanganannya tidak bersih). Bakteri patogen yang banyak dijumpai pada daging mentah antara lain *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, dan *Listeria monocytogenes* (Usmiati, S., dan Marwati, T., 2007). Bakteriosin sebagai agen biopreservatif sangat potensial digunakan untuk mengendalikan beberapa bakteri patogen pada daging, tetapi secara komersial ketersediaannya masih sedikit dan harganya sangat mahal, padahal koleksi bakteri asam laktat (BAL) di Indonesia tersedia cukup banyak

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus sp.* pada daging sapi. Sebagaimana diketahui bahwa daging sapi berperan cukup besar dalam konteks ketahanan pangan nasional karena merupakan salah satu komoditas sumber protein hewani yang penting untuk kesehatan dan pertumbuhan. Kesehatan daging merupakan bagian yang penting bagi keamanan pangan dan selalu menjadi pokok permasalahan yang mendapatkan perhatian khusus dalam penyediaan daging untuk konsumen. Daging yang disimpan pada suhu kamar pada waktu tertentu akan mengalami kerusakan. Hal ini karena daging merupakan bahan pangan yang bergizi tinggi dan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba. Kerusakan daging oleh mikroba mengakibatkan penurunan mutu daging. Jumlah dan jenis mikroba yang mencemari permukaan daging ditentukan oleh penanganan sebelum penyembelihan ternak dan tingkat pengendalian higienis dan sistem sanitasi yang baik selama penanganan hingga dikonsumsi. Besarnya kontaminasi mikroba pada daging menentukan kualitas dan masa simpan daging. Untuk menghindari kerusakan, daging perlu diawetkan dengan memperhatikan persyaratan keamanan pangan (Usmiati, 2010).

Penggunaan bakteriosin untuk pengawet alami perlu mempertimbangkan pula sifat-sifat kestabilan bakteriosin tersebut, karena di dalam pengolahan makanan sering melibatkan proses suhu baik tinggi maupun suhu rendah. Mengingat besarnya manfaat bakteriosin untuk keamanan pangan maka penelitian tentang produksi bakteriosin oleh BAL *Lactobacillus plantarum* DJ3 serta aplikasinya untuk pengawetan daging sapi.

Tujuan Penelitian Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan *Lactobacillus plantarum* DJ3 dalam memproduksi bakteriosin dan lama penyimpanan daging yang diberi pengawet bakteriosin

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan secara diskriptif yang terdiri dari 2 tahap dan setiap tahap diulang 3 (tiga) kali : Tahap I : Produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum*. Tahap II : Lama penyimpanan daging (P) yang diberi pengawet bakteriosin, P1: 8 jam dan P2: 12 jam

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Media

Media MRS agar dibuat dengan melarutkan 6.28 g dalam 100 ml, media MRS broth dibuat dengan melarutkan 5.22 g dalam 100 ml, media Nutrient Agar dibuat dengan melarutkan 2.3 g dalam 100 ml dan media Nutrient Broth dibuat dengan melarutkan 0.9 g dalam 100 ml Semua bahan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga larut, kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam enlenmeyer dan ditutup kapas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf menggunakan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil 2 ose bakteri *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan digoreskan pada media MRS miring. Sedangkan untuk bakteri patogen yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* digoreskan pada media NA miring.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

***Lactobacillus plantarum* DJ3**

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan cara menginokulasikan sebanyak 2 ose masing-masing bakteri *Lactobacillus plantarum* DJ3 hasil peremajaan ke dalam 200 mL media MRS broth, kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam dan setiap 3 jam sekali diambil 4 ml untuk diukur kekeruhannya (OD) pada panjang gelombang 600 nm. Kurva pertumbuhan dilakukan sampai fase logaritmik.

Pembuatan Inokulum (Kultur Aktif)

Lactobacillus sp.

Pembuatan inokulum dilakukan dengan cara menginokulasikan sebanyak 2 ose masing-masing hasil peremajaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DJ3 ke dalam 25 ml media MRS broth kemudian diinkubasi pada shakerincubator dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm sampai fase logaritmik.

Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 (Razak, dkk. 2009)

Inokulum *L. plantarum* DJ3 diinokulasi sebanyak 5 ml ke dalam 45 ml media MRS broth yang telah ditambahkan yeast extract 2% (b/v) dan diinkubasi pada shakerincubator dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm selama 24 jam sehingga pH media menunjukkan sekitar 4. Filtrat hasil fermentasi dipisahkan dari endapan selnya dengan disentrifugasi pada 5000 rpm, 4°C selama 30 menit. dan selanjutnya filtrat bebas sel dinetralkan dengan NaOH 1N sampai pH 7. Filtrat hasil fermentasi tersebut merupakan ekstrak kasar bakteriosin yang akan dipakai untuk penelitian berikutnya.

Uji Lama Penyimpanan Daging yang Diberi Pengawet Bakteriosin

Uji ini dilakukan dengan membuat potongan daging sapi segar 10 gram dan merendamnya selama 30 menit dalam 10 ml larutan bakteriosin, ditiriskan untuk mengeluarkan sisa filtrat selama 30 menit dan dikemas rapat dalam cawan petri, kemudian disimpan pada suhu ruang selama 12 jam. Pada jam ke 8 dan 12 dihitung jumlah mikroba kontaminan yang tumbuh pada daging dengan Total Plate Count (TPC).

Uji Aktivitas Antibakteri dari Baktriosin

Uji penghambatan bakteriosinterhadap bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pemilihan bakteri ini mewakili bakteri Gram positif dan Gram negatif serta mewakili keberadaan bakteri patogen pada daging. Prosedur pengujiannya dilakukan dengan metode difusi cakram menurut Schillinger dan Lucke (1989) yaitu sebagai berikut:

1. Satu ose kultur bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) masing-masing diinokulasikan kedalam media NB (*Nutrient Broth*) 10 ml

dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 jam. Masing-masing bakteri uji diinokulasikan sebanyak 25 µl kedalam NA (*Nutrient Agar*) secara *pour plate* dan dibiarkan mengeras,

2. Media NA yang telah mengeras kemudian dibuat sumuran dengan alat bor yang steril di bagian tengah cawan petri,
3. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam dalam filtrat bakteriosin selama 30 menit, kemudian diletakkan di atas media NA yang berisi bakteri uji.
4. Diinkubasi pada 30°C selama 24 jam,
5. Diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur sebagai zona penghambatan bakteriosin terhadap bakteri uji (bakteri patogen).

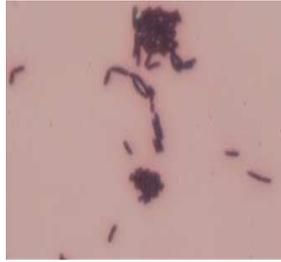
Analisis Data

Datadiolah menggunakan metode deskriptif. Data hasil penelitian disusun dalam tabel-tabel, diklasifikasikan sehingga merupakan suatu susunan urutan data dan dimuat dalam grafik untuk kemudian diinterpretasikan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

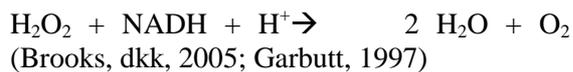
Konfirmasi Pewarnaan Gram dan Uji Katalase

Konfirmasi pewarnaan gram dan uji katalase dilakukan untuk melihat kemurnian BAL yaitu *L. plantarum* DJ3 yang akan digunakan untuk penelitian ini. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *L. plantarum* DJ3 adalah Gram positif dengan bentuk sel batang. Pewarnaan gram merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan negatif. Lapisan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Menurut Brooks *et al.*, (2005), bakteri gram positif memiliki unsur khusus yaitu *teichoic* sebanyak 50% dari berat kering dinding sel. Unsur ini memiliki fungsi untuk menjaga transportasi ion, integritas dinding sel, penggantian *choline* oleh *ethanolamine* sehingga resisten terhadap autolisis dan menjaga permeabilitas eksternal. Hasil pewarnaan gram seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram *L. plantarum* DJ3

Hasil uji katalase menunjukkan *L. plantarum* DJ3 adalah katalase negatif. Uji katalase yang dilakukan pada isolat untuk mengetahui kemampuannya dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis konversi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air (H_2O) dan oksigen. BAL merupakan kelompok bakteri yang tidak memiliki enzim katalase, tetapi memiliki enzim peroksidase untuk mengubah H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O . Berbeda dengan enzim katalase yang secara langsung mengkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , enzim peroksidase membutuhkan reduktan seperti NADH untuk mengkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O . Persamaan reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim peroksidase terhadap H_2O_2 :



Menurut *Bergey's* (1994), ciri-ciri dari genus *Lactobacillus* adalah berbentuk batang, Gram positif, *facultative anaerob*, dengan ciri koloni ukuran 2-5 mm, *convex, entire*, keruh dan tanpa pigmen. Sehingga uji konfirmasi dan kemurnian terhadap *L. plantarum* DJ3 yang digunakan dalam penelitian ini adalah sudah benar. *L. plantarum* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi dari usus itik petelur pada penelitian sebelumnya dan telah diidentifikasi sampai tingkat spesies menggunakan kit API 50 CH (Muwakhid dan Maunatin, 2012).

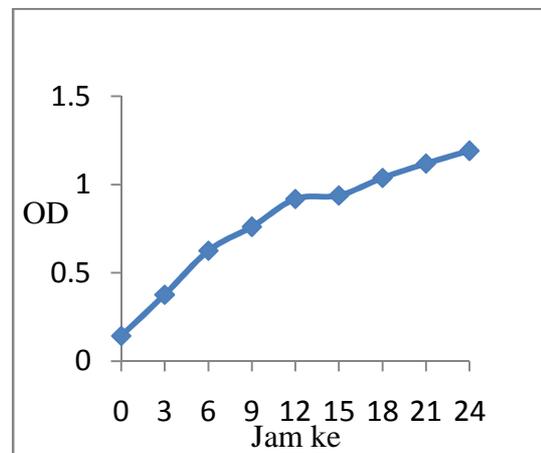
Kurva Pertumbuhan *L. plantarum*

Pembuatan kurva pertumbuhan *L. plantarum* DJ3 dilakukan dengan menggunakan *shaker incubator* pada suhu $30^\circ C$ kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Kurva

pertumbuhan yang dilakukan pada penelitian ini hanya sampai pada fase logaritmik.

Pengamatan adanya pertumbuhan sel dilakukan dengan melihat terjadinya kekeruhan pada medium tumbuh BAL yaitu MRS *broth* dan setiap 3 jam mengukur nilai *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 600 nm dengan pengenceran 10^{-1} .

Gambar 2 menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan *L. plantarum* DJ3 ditandai dengan meningkatnya nilai OD medium sejalan dengan meningkatnya lama waktu inkubasi. Tahapan fase lambat (*Lag Phase*) pada pertumbuhan *L. plantarum* DJ3 tidak terlihat sehingga fase adaptasi terjadi sebelum jam ke 3.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *L. Plantarum* DJ3

Pada fase lambat ini populasi *L. plantarum* DJ3 belum mengalami pertumbuhan yang berarti, dikarenakan baru saja menyesuaikan dalam medium yang baru. Menurut Madigan *et al.*, (2000) dalam Astuti dan Rahmawati (2010), hal tersebut menyebabkan sel belum dapat melakukan reproduksi atau pembelahan, tetapi masih beradaptasi dengan medium atau lingkungan barunya. Fase lambat ini memungkinkan terjadinya penambahan ukuran sel, tetapi bukan pada jumlah selnya karena pada jam awal inkubasi ini densitas belum meningkat secara nyata. Fase logaritmik (*Exponential Phase*) ditandai dengan bertambahnya populasi secara signifikan. Jumlah sel meningkat setelah jam ke-3 sampai jam ke-24. Sebelum perlakuan produksi bakteriosin, inokulum yang dipakai berumur 18 jam, karena pada jam ke-18 *L. plantarum* DJ3 pada fase logaritmik,

sehingga telah siap dipakai sebagai inokulum. Sedangkan pada produksi bakteriosin fermentasi dilakukan selama 24 jam. Menurut Djide dan Sartini (2008), umumnya bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit primer seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida dan bakteriosin pada fase logaritmik dan fase stasioner. Fardiaz (1988), metabolit primer seperti asam laktat, asam asetat dan hidrogen peroksida berfungsi sebagai antibakteri. Menurut Sarkono *et al.*, (2006), Giraud *et al.*, (1994) dalam Harmayani *et al.*, (2009), bakteri asam laktat memproduksi metabolit primer pada akhir fase logaritmik jam ke-18 sampai jam ke-24. Yuliana (2007), menyatakan bahwa untuk bakteri asam laktat fase logaritmik biasanya dicapai pada inkubasi 18 – 24 jam tergantung media dan jenis BAL.

Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3

Penelitian tahap I melakukan produksi bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.plantarum* DJ3 dan dilakukan uji aktivitas bakteriosin tersebut terhadap bakteri patogen. Produksi bakteriosin secara fermentasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *shaker incubator* pada suhu 30°C kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Produksi bakteriosin mencapai maksimal pada pertengahan fase logaritmik sampai awal fase stasioner. Umumnya aktivitas bakteriosin setelah memasuki fase stasioner mengalami penurunan karena meningkatnya produksi enzim-enzim proteolitik yang akan mereduksi bakteriosin (Jimenez, 1993). Adapun media produksi bakteriosin pada penelitian ini menggunakan media MRS *broth* yang telah ditambahkan *inducer* yaitu *yeast extract* sebanyak 2% (b/v). Penelitian yang dilakukan oleh Ogunbanwo, *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa penambahan *yeast extract* sebanyak 2% pada media MRS *broth* dapat meningkatkan aktivitas bakteriosin sekitar dua kali. Ekstrak kasar bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.plantarum* DJ3 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ekstrak Kasar Bakteriosin

Adanya aktivitas bakteriosin dari filtrat hasil fermentasi *L.plantarum* DJ3 dapat diketahui dengan melakukan uji aktivitas anti mikroba dari bakteriosin menggunakan metode difusi cakram dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* kemudian setelah inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam maka zona penghambatan yang terbentuk diamati. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini mewakili bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*, agar dapat diketahui keefektifan ekstrak kasar bakteriosin dalam menghambat kedua jenis bakteri patogen tersebut. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menunjukkan bahwa bakteri uji tidak dapat tumbuh. Adapun diameter zona penghambatan bakteriosin terhadap bakteri patogen disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona Penghambat Bakteriosin Terhadap Bakteri Patogen

Jenis BAL	Bakteri Patogen	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
<i>L.plantarum</i>	<i>E.coli</i>	4	4	4	4
	<i>S.aureus</i>	5	6	5	5.3

Tabel 1 menunjukkan bahwa *L.plantarum* mempunyai aktivitas penghambatan bakteriosin lebih kuat terhadap bakteri *S.aureus* daripada *E.coli* yaitu masing-masing penghambatan 4 mm untuk *E.coli* dan 5.33 mm untuk *S.aureus*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Jin, *et al.*, (1996) bahwa *Lactobacillus* menunjukkan sifat antibakterial dari bakteriosin yang lebih kuat terhadap bakteri-bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogens*) daripada bakteri-bakteri gram negatif (*Salmonella typhi* dan *E.coli*).

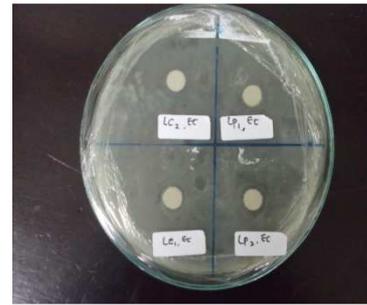
Dinding sel bakteri merupakan kerangka kaku di luar membran sel bakteri. Membran sel bakteri membungkus suatu massa yang bertekanan tinggi mencapai 20 atm karena mengandung metabolit yang tekanannya lebih tinggi dari tekanan sekitar sel. Bila tidak ada dinding sel maka membran sel tidak mampu untuk menahan tekanan osmotik di dalam sel

bakteri sehingga sel akan pecah (Januarsyah, 2007). Dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis serta tidak mengandung asam teikat sebagai salah satu reseptor bakteriosin (Bhunia *et al.*, 1991) sehingga akan lebih resisten terhadap bakteriosin. Selain itu adanya perlindungan membran luar yang membentuk lapisan terluar dari selubung sel akan berfungsi sebagai penghalang yang efisien melawan larutan hidrofobik tertentu dan makromolekul (Olasupo *et al.*, 2003).

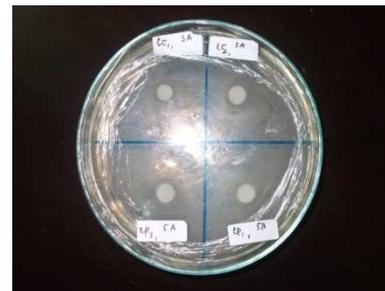
Beberapa penelitian mendapatkan hasil yang berbeda bahwa beberapa jenis bakteriosin menunjukkan spektrum yang lebih luas. Ray (1992) mengemukakan bahwa nisin dan pediosin AcH memiliki aktivitas bakterisidal terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteriosin lain yang dilaporkan aktif melawan bakteri gram negatif terutama *E.coli* dan *S.typhimurium* diantaranya bakteriosin dari *Lactococcus lactis* KSA2386 dan lacticin NK24 (Todorov dan Dicks, 2004), bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* OG1 (Ogunbanwo *et al.*, 2003), bakteriosin dari *Leuconostoc* yang diisolasi dari produk daging kemas vakum (Budde *et al.*, 2003), serta bakteriosin yang diproduksi dari *Lactobacillus plantarum* hasil isolasi dari molasses (Todorov dan Diks, 2005).

Aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.plantarum* DJ3 dalam penelitian ini lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ogunbanwo, *et al.*, (2003) yang melaporkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.plantarum* F1 mampu menghambat *E.coli* dan *S.aureus* dengan zona penghambatan masing-masing sebesar 8 mm, sedangkan bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.brevis* OG1 mampu menghambat *E.coli* dan *S.aureus* dengan zona penghambatan masing-masing sebesar 6 mm dan 5 mm. Sehingga bakteriosin yang diperoleh dalam penelitian ini mempunyai kemampuan yang hampir sama dengan bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.brevis* OG1 dalam menghambat bakteri patogen yaitu *E.coli* dan *S.aureus*.

Zona penghambatan bakteriosin terhadap *E.coli* dan *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5. Adapun jumlah bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai OD sebesar 0.3 atau setara dengan 10^8 cfu/ml.



Gambar 4. Penghambatan Bakteriosin Terhadap *E.coli*



Gambar 5. Penghambatan Bakteriosin Terhadap *S.aureus*

Aplikasi Bakteriosin Sebagai Pengawet Daging Sapi

Pemakaian bakteriosin komersial sebagai biopreservatif sudah dilakukan di beberapa negara dan diaplikasikan pada beberapa jenis makanan. Beberapa galur bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan senyawa protein yang disebut bakteriosin, dan bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Tahara *et al.*, 1996). Bakteriosin dapat diproduksi oleh *Lactococcus*, *Lactobacillus* dan *Pediococcus*, misalnya nisin diproduksi oleh *Lactococcus lactis*, pediosin AcH dihasilkan *Pediococcus acidilactis*.

Beberapa kelebihan bakteriosin sehingga potensial digunakan sebagai biopreservatif yaitu (Cleveland *et al.*, 2001) :

1. Bukan bahan toksik dan mudah mengalami degradasi oleh enzim proteolitik karena merupakan senyawa protein;
2. Tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim saluran pencernaan;
3. Dapat mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai pengawet pangan;
4. Penggunaannya fleksibel; dan
5. Stabil terhadap pH dan suhu yang cukup luas sehingga tahan terhadap proses

pengolahan yang melibatkan asam dan basa, serta kondisi panas dan dingin

Menurut Ray (1996), beberapa bakteriosin BAL yang digunakan sebagai biopreservatif dalam berbagai produk makanan antara lain adalah bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus sp.*

Bakteriosin yang dihasilkannya memiliki spektrum yang luas sebagai pengawet makanan dan mampu melawan bakteri gram negatif patogen. *Lactobacillus sp.* dapat ditemukan di dalam daging, produk daging, susu, saluran pencernaan, dan makanan yang difermentasi secara terkontrol. Penelitian ini menggunakan ekstrak kasar bakteriosin hasil fermentasi dari *Lactobacillus plantarum* DJ3.

Daging mudah rusak oleh kontaminasi mikroba, untuk mencegahnya dapat dilakukan dengan pemberian pengawet alami yaitu

bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.plantarum* DJ3. Bakteriosin mampu menghambat bakteri patogen dan pembusuk dengan efektif. Pemberian pengawet bakteriosin dalam penelitian ini dilakukan dengan cara perendaman daging dalam ekstrak kasar bakteriosin selama 30 menit, selanjutnya daging yang telah diberi pengawet bakteriosin disimpan pada suhu ruang.

Lama penyimpanan daging sampai 12 jam dan pada jam ke 8 dan jam ke 12 jumlah bakteri yang tumbuh pada daging diamati dengan *Total Plate Count* (TPC) untuk mengetahui tingkat kerusakan daging. Jumlah bakteri yang ada pada daging dengan pemberian ekstrak kasar bakteriosin dan tanpa ekstrak kasar bakteriosin pada penyimpanan suhu ruang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Bakteri pada Daging Setelah Penyimpanan

Perlakuan	Lama Penyimpanan (Jam)	Jumlah Bakteri (Cfu/g)			Rata-rata
		1	2	3	
Pemberian Bakteriosin	8	1.4×10^8	2.1×10^8	3.1×10^7	1.3×10^8
	12	5.2×10^9	1×10^9	8.1×10^7	2×10^9
Tanpa Bakteriosin (Kontrol)	8	3.7×10^8	4.9×10^8	2.5×10^8	3.7×10^8
	12	2×10^{11}	2.2×10^{11}	1.5×10^{10}	1.5×10^{11}

Jumlah awal bakteri pada daging yang digunakan dalam penelitian ini cukup tinggi yaitu 2.3×10^5 Cfu/g. Hal ini bisa disebabkan karena daging yang digunakan dalam penelitian ini dibeli dari pedagang di pasar yang diperlakukan pada suhu ruang (bukan suhu rendah) sehingga secara internal daging akan terkontaminasi jika tidak didinginkan setelah penyembelihan.

Jumlah dan jenis mikroorganisme yang mencemari daging ditentukan oleh tingkat pengendalian higienis yang dilaksanakan selama penanganan, diawali saat penyembelihan ternak dan pembersihan karkas hingga sampai ke konsumen. Pertumbuhan mikroorganisme berhubungan erat dengan kualitas daging segar. Peningkatan jumlah mikroorganisme pembusuk berpengaruh terhadap daya tahan atau masa simpan daging.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada semua perlakuan lama penyimpanan dengan pemberian ekstrak kasar bakteriosin lebih mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada daging jika dibandingkan dengan tanpa

pemberian ekstrak kasar bakteriosin (kontrol) dimana pertumbuhan bakteri daging lebih cepat. Penyimpanan daging selama 8 jam menunjukkan jumlah bakteri yang tumbuh adalah 1.3×10^8 cfu/g yaitu mengalami kenaikan sebesar 3 log dari jumlah awal bakteri daging, sedangkan pada kontrol jumlah bakteri yang tumbuh adalah 3.7×10^8 cfu/g yaitu mengalami kenaikan sebesar 3 log.

Penyimpanan selama 8 jam belum menunjukkan bau busuk untuk perlakuan dengan penambahan ekstrak kasar bakteriosin, tetapi untuk daging yang tidak diberi ekstrak kasar bakteriosin sudah menunjukkan adanya bau busuk karena jumlah bakterinya lebih banyak. Menurut Russel (2001) bau busuk dan lendir timbul ketika jumlah bakteri mencapai 1×10^8 cfu/cm², sedangkan penelitian lain menyebutkan bahwa bau busuk timbul ketika jumlah bakteri mencapai 1.2×10^6 cfu/cm² dan lendir timbul ketika bakteri berjumlah sekitar $3.2 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ cfu/cm². Bau busuk karena produksi hidrogen sulfida (H₂S), NH₃ dan merkaptan yang merupakan bahan utama

penyebab bau busuk akibat metabolisme protein oleh mikroorganisme. Bakteri penyebab bau busuk diantaranya *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Serratia*, dan *Brochothrix* (Ray, 2004). Lendir umumnya disebabkan oleh bakteri berkapsul (Alcamo, 1983), di antaranya *Pseudomonas* dan *Alcaligenes* (Frazier dan Westhoff, 1988). Daging dengan kontaminan 10^5 cfu/cm² akan menjadi busuk dalam 6 hari apabila disimpan pada suhu 5°C dan daging dengan kontaminan 10^3 cfu/cm² tidak akan menjadi busuk selama 10-11 hari penyimpanan pada suhu 5°C (Suyasa, 2002). Jumlah awal bakteri pada daging yang digunakan dalam penelitian yaitu 10^9 Cfu/g dan perlakuan penyimpanan daging dilakukan pada suhu ruang sehingga sangat memungkinkan untuk menyebabkan kerusakan daging lebih cepat.

Total bakteri daging yang diberi ekstrak kasar bakteriosin pada jam ke 12 adalah 2×10^9 cfu/g yaitu mengalami kenaikan sebesar 4 log dari jumlah awal bakteri daging dan daging juga mulai berbau busuk, sedangkan pada kontrol jumlah bakteri adalah 1.5×10^{11} cfu/g yaitu mengalami kenaikan sebesar 6 log dan bau busuk bertambah menyengat dibandingkan dengan penyimpanan selama 8 jam. Jumlah bakteri yang lebih rendah pada daging dengan perlakuan pemberian ekstrak kasar bakteriosin bisa terjadi karena bakteriosin bersifat melisis sel bakteri sehingga menyebabkan proses kematian pada sel yang sensitif terhadap bakteriosin (Gonzales *et al.*, 1996). Hal ini mampu menghasilkan lingkungan yang tidak menguntungkan bagi bakteri.

Secara umum peningkatan jumlah populasi bakteri sejalan dengan lamanya waktu penyimpanan daging disebabkan oleh adanya pertumbuhan dan perkembangan bakteri pada daging dengan kondisi lingkungan yang mendukung. Daging merupakan media yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme termasuk mikroorganisme pembusuk, hal ini karena : (1) mempunyai kadar air yang tinggi sekitar 68-75% (2) kaya akan zat yang mengandung nitrogen dengan kompleksitasnya yang berbeda, (3) mengandung sejumlah karbohidrat yang dapat difermentasikan, (4) kaya akan mineral dan kelengkapan faktor untuk pertumbuhan mikroorganisme, (5) mempunyai pH yang menguntungkan untuk sejumlah mikroorganisme (Soeparno, 1994).

KESIMPULAN

Ekstrak kasar bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 4 mm dan 5.33 mm.

Ekstrak kasar bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* DJ3 mampu menghambat pertumbuhan bakteri daging. Bakteri pada daging selama penyimpanan 8 jam adalah 1.3×10^8 cfu/g dengan pemberian bakteriosin dan 3.7×10^8 tanpa pemberian bakteriosin. Sedangkan jumlah bakteri pada penyimpanan daging selama 12 jam adalah 2×10^9 cfu/g dengan pemberian bakteriosin dan 1.5×10^{11} tanpa pemberian bakteriosin.

SARAN

1. Sebaiknya sampel daging sapi yang digunakan diambil dari RPH
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aplikasi pengawetan daging menggunakan ekstrak kasar bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* DJ3 dengan penyimpanan pada suhu rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, I. E. 1983. *Fundamentals of Microbiology*. Addison-Wesley Publishing Company, London.
- Ammor S., G. Tauveron, E. Dufour, and I. Chevallier. 2006. *Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat smallscale facility* : 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. Food
- Bhunja, A. K., M. C. Johnson, B. Ray, and N. Kalchaanand. 1991. *Mode of action of pediocin AcH from Pediococcus acidilactici H on sensitive bacteria strains*. J. Appl. Bacteriol. 70 : 1-25.
- Budde, B. B. and M. Jakobsen. 2000. *Real-time Measurements Of The Interaction Between Single Cells of Listeria monocytogenes and Nisin on A Solid Surface*. J. Appl. Environ. Microbiol. 66 (8) : 3586-3591.
- Cleveland, J., J.T. Montville, I.F.Nes and M.L. Chikindas. 2001. *Bacteriocin: safe, natural antimicrobials for food preservation*. International Journal of Food Microbiology 71:1-20.

- Frazier, W. C. and D. C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology. 4th Edition*. McGraw-Hill Book Company, Singapore.
- Gonzales, B. E., F. Glaasker, F. R. S. Kunji, A. J. M. Driessen, J. E. Suarez, and W. N. Konings. 1996. *Bactericidal mode of action of Plantaricin S. J. Appl. Environ. Microbiol.* 62:2701-2709.
- Januarsyah, T., 2007, *Kajian Aktivitas Hambat Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Galur SCG 1223*. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Lawrie, R.A., 2003, *Ilmu Daging*, Edisi kelima, Penerjemah Aminuddin P., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Loekman S, Maamoen A, Ridwan S, Suparmi, Edison. 1991. *Pengaruh Pengemasan terhadap Mutu Ikan Baung(Macrones sp)Asap*. Jurnal Penelitian, Pusat Penelitian Universitas Riau.
- Madigan MT, Martinko JM (2006). *Brock: Biology of Microorganism*. Pearson Education International. ISBN 0-13-196893-9, Page.375-377
- Mataragas, M., E.H. Drosinos, and J. Metaxopoulos. 2003. *Antagonistic activity of lactic acid bacteria against Listeria monocytogenes in sliced cooked cured pork shoulder stored under vacuum or modified atmosphere at 4±2°C*. Food Microbiology 20: 259–265.
- Muwakhid dan Maunatin, 2012, *Uji Kemampuan BAL Selulolitik Asal Usus Itik Petelur sebagai Probiotik*. Proceeding Greentech 3. UIN MALIKI Malang
- Nugroho, D.A. dan Rahayu, E.S. 2003. *Ekstraksi dan Karakterisasi Bakteriosin yang Dihasilkan oleh Leuconostoc mesenteroides SM 22*. J.Teknol.dan Industri Pangan, Vol XIV (3)
- Ogunbanwo, S. T., A. I. Sanni, and A. A. Onilude. 2003. *Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by Lactobacillus brevis OGI*. Afric. J. Biotechnol. 2 (7) : 179-184.
- Olasupo, N. A., D.J. Fitzgerald, M.J. Gasson, and A. Narbad. 2003. *Activity of natural antimicrobial compounds against Escherichia coli and Salmonella enterica serovar typhimurium*. Lett. Appl. Microbiol. 36 : 448–451.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, London.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. 3rd Edition. CRC Press, London.
- Razak, A.R, Patong, A.R, Harlim, T., Djide, M.N., Haslia dan Mahdalia. 2009. *Produksi Senyawa Bakteriosin Secara Fermentasi menggunakan isolat BAL Enterrococcus faecium DU55 dari Dangke*. J.Indonesia Chemica Acta Vol 2 (2) : ISSN 2085-014X
- Russel, S. M., 2001. *Spoilage bacteria associated with poultry*. In : A. R. Sams (Editor). *Poultry Meat Processing*. CRC Press, New York.
- Soeparno. 1998, *Ilmu dan Teknologi Daging*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Suyasa, I. N. 2002. *Penambahan asam asetat dan asam laktat serta pengaruhnya terhadap kualitas daging sapi*. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tahara, T., M. Oshimura, C. Umezawa and K. Kanatani. 1996. *Isolation partial characterization and mode of action acidocin J1132, a two-compound bacteriocin produced by Lactobacillus acidophilus JCM 1132*. Appl. Environ. Microbiol. 62:892-897.
- Todorov, S. D. and L. M. T. Dicks. 2005. *Lactobacillus plantarum isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria*. J. Enz. Microb. Technol. 36 : 318-326.
- Usmiati, S. dan Marwati, T. 2007. *Seleksi dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin dari Lactobacillus sp*. J. Pascapanen 4(1) : 27-37
- Usmiati, S. 2009, *Penggunaan Bakteriosin untuk mempertahankan Kesegaran Daging Ayam*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor
- Usmiati, S. 2010. *Pengawetan Daging Segar dan Olahan*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor

