

Pemanfaatan Supernatan *Lactobacillus plantarum* Sebagai Penghambat Pertumbuhan *Escherichia coli* pada *Dangke* Susu Sapi

(UTILIZATION OF LACTOBACILLUS PLANTARUM SUPERNATAN AS AN INHIBITOR OF *ESCHERICHIA COLI* GROWTH IN COW'S MILK DANGKE)

Nining Arini^{1,2}, Mirnawati Sudarwanto³,
Idwan Sudirman⁴, Agustin Indrawati⁴

¹Mahasiswa S3 Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB)

²Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indonesia Maju (STIKIM)
Jl. Harapan No. 50, Lenteng Agung, Jakarta Selatan.
Tlp. (021)87878788; email: ning.arini@gmail.com

³Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner

⁴Bagian Mikrobiologi Medik, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB,
Jl. Agatis, Kampus IPB, Darmaga, Bogor, Indonesia 16680.

ABSTRAK

Dangke merupakan makanan tradisional masyarakat Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan yang dibuat dari susu kerbau atau susu sapi. *Dangke* dapat terkontaminasi pada saat proses pembuatan oleh *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare pada anak-anak dan orang dewasa. Supernatan *Lactobacillus plantarum* diketahui memiliki kemampuan antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai biopreservasi. Penelitian ini disusun dengan tujuan menentukan kadar hambat minimum (KHM) supernatan *L. plantarum* dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922, mengetahui kadar nutrisi *dangke* susu sapi setelah penambahan lemak 1% dan 2%, serta mengetahui pengaruh penambahan supernatan *L. plantarum* dan lemak susu sapi ke dalam *dangke* terhadap pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* ATCC 25922. Nilai KHM ditetapkan berdasarkan nilai konsentrasi terendah dari supernatan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dalam media. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial 2x2, yaitu faktor I: penambahan supernatan *L. plantarum* (dengan penambahan dan tanpa penambahan supernatan); dan faktor II: penambahan kadar lemak (1% dan 2%) dan waktu pengamatan dilakukan pada hari ke-0, 2, 4, 6, dan 8. Hasil penghitungan pertumbuhan bakteri patogen dianalisis dengan sidik ragam. Hasil yang menyatakan berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian ini menunjukkan supernatan hasil fermentasi *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 secara *in vitro* dengan KHM 10%. Kadar lemak dan protein pada *dangke* yang ditambah lemak susu sapi 1% lebih tinggi dibandingkan dengan yang ditambah lemak susu sapi 2%. Supernatan *L. plantarum* terbukti mampu menekan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biopreservasi alami *dangke*.

Kata-kata kunci: *dangke*; supernatan *Lactobacillus plantarum*; lemak susu sapi; *E. coli* ATCC 25922.

ABSTRACT

Dangke is a traditional food in Enrekang, a district in South Sulawesi. Its made from buffalo's milk or cow's milk. *Dangke* could be contaminated during the process with *Escherichia coli* which causes diarrhea in children and adults. It was known that supernatant of *Lactobacillus plantarum* has antibacterial capacity, and it may be used as a biopreservative agent. The research aims were to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of *L. plantarum* supernatant in inhibiting the growth of *E. coli* ATCC 25922, determine the nutrients level of cow's milk *dangke* after the addition of 1% and 2% milk fat, as well as determine the effect of *L. plantarum* supernatant and cow's milk fat addition into *dangke* inhibited the growths of pathogenic bacteria of *E. coli* ATCC 25922. MIC value was determined based on the value of the lowest concentration of supernatant that shown with no any bacteria growth in the media. Data of pathogenic bacteria growth

analyzed with analysis of variance test with a 2x2 factorial design, which 1st factor was the addition of *L. plantarum* supernatant (with or without addition of supernatant) and the second factor was the addition of fat content (1% and 2%) and time observation was made on days 0, 2nd, 4th, 6th, and 8th. Results showed that the filtrate of fermented *L. plantarum* was able to inhibit the growth of *E. coli* ATCC 25922 in vitro and had 10% minimum inhibitory concentration (MIC). Level of fat and protein in *dangke* which added 1% cow's milk fat, was higher than with 2% cow's milk fat. The *L. plantarum* supernatant is proved to be able to inhibit the growth of *E. coli* ATCC 25922. Therefore, it is potentially used as a natural biopreservative agent in making *dangke*.

Key words: *dangke*; *Lactobacillus plantarum* supernatant; cow's milk fat; *E. coli* ATCC 25922.

PENDAHULUAN

Dangke adalah makanan tradisional masyarakat Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan yang dibuat dari susu kerbau. *Dangke* susu sapi memiliki kandungan nutrisi yang tinggi antara lain protein 23,8%, lemak 14,8%, kadar air 55%, dan kadar abu 2,1% (Hatta *et al.*, 2013). Pembuatan *dangke* dilakukan melalui proses pemanasan susu, penggumpalan, dan selanjutnya dikemas menggunakan daun pisang.

Saat ini pembuatan *dangke* difokuskan pada susu sapi. Salah satu kendala yang dialami dalam pengembangan makanan tradisional tersebut adalah keragaman kualitas produk yang dihasilkan oleh masyarakat. Selain itu juga masa simpan produk yang cukup singkat sehingga pemasarannya relatif sulit menjangkau wilayah yang lebih luas. Hasil penelitian Diouf *et al.* (2012) melaporkan bahwa susu yang digumpalkan menggunakan getah pepaya memiliki pH 5,9-6,7, dan mampu bertahan sampai 24 jam pada suhu ruang.

Dangke termasuk keju lunak (*soft cheese*) karena tidak diperam dan kandungannya air di atas 50%. Kandungan air yang tinggi menyebabkan *dangke* mudah terkontaminasi oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* (Paxson, 2008). Kontaminasi *dangke* susu sapi oleh bakteri *E. coli* juga dilaporkan Hatta *et al.* (2013) sebesar 73%. Beberapa serotipe *E. coli* menyebabkan diare pada anak-anak dan orang dewasa terutama di negara berkembang. Pemeriksaan terhadap keju berdasarkan Standar Nasional Indonesia No. 7388 tahun 2009 (SNI, 2009) mengenai batas maksimal kandungan *E. coli* adalah 10 koloni/g.

Dilaporkan bahwa supernatan hasil fermentasi oleh *Lactobacillus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Streptococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, dan *E. coli*, bahkan supernatan yang sudah disimpan selama enam bulan memiliki kemampuan antibakteri yang tidak berubah.

Khoiriyah *et al.* (2014) juga melaporkan bahwa senyawa antimikrob yang diproduksi oleh *Lactobacillus* sp. mampu menghambat *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Salmonella* sp., *Aeromonas hydrophila*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albican*.

Penelitian ini disusun dengan tujuan menentukan kadar hambat minimum (KHM) supernatan *L. plantarum* dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922, mengetahui kadar nutrisi *dangke* susu sapi setelah penambahan lemak susu sapi 1% dan 2%, serta mengetahui pengaruh penambahan supernatan *L. plantarum* dan lemak susu sapi ke dalam *dangke* terhadap pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* ATCC 25922. Manfaat penelitian ini adalah ditemukannya suatu kadar hambat minimum dari supernatan *L. plantarum* yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Diharapkan pada akhirnya supernatan *L. plantarum* dapat dimanfaatkan sebagai biopreservasi alami *dangke* yang aman dikonsumsi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bakteri patogen sebagai bakteri uji adalah *E. coli* ATCC 25922 koleksi Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, FKH-IPB, dan *L. Plantarum* (koleksi Pusat Studi Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada).

Isolat *L. plantarum* dan *E. coli* ATCC 25922 dikonfirmasi dengan pewarnaan Gram dan uji katalase menggunakan H₂O₂ 3%. Selanjutnya terhadap *L. plantarum* dilakukan uji API 50 CHL (bioMérieux, Inc., Marcy l'Etoile, Perancis). Isolat *L. plantarum* hasil identifikasi diinokulasikan ke dalam 100 mL medium *de*

Man Rogosa and Sharpe Broth/MRSB (Oxoid, Oxoid Ltd., Basingstoke, United Kingdom), dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (Usmiati dan Marwati, 2007). Selanjutnya dilakukan pemisahan sel dengan supernatan menggunakan sentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian disaring menggunakan membran filter 0,2 µm. Supernatan yang sudah disaring disimpan pada suhu 4°C sebagai stok.

Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Menentukan KHM dilakukan dengan menggunakan metode dilusi (Sari *et al.*, 2010). Sebanyak 5 mL larutan uji yang terdiri dari media *Nutrient Broth*/NB (Oxoid, Oxoid Ltd., Basingstoke, United Kingdom), supernatan *L. plantarum* dan 10⁶ cfu/mL bakteri patogen dimasukkan ke dalam tabung. Larutan uji dibuat dalam beberapa konsentrasi supernatan yaitu: 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%. Selanjutnya larutan uji tersebut dihomogenkan, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat ada tidaknya kekeruhan pada larutan uji. Selanjutnya dari masing-masing konsentrasi larutan uji diambil 0,1 mL dan disebar ke media spesifik untuk masing-masing jenis bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi, kembali dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dan dihitung jumlah koloninya. Konsentrasi larutan uji yang tidak ada pertumbuhan bakteri uji pada media, ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM).

Pembuatan *Dangke*

Susu sapi dipanaskan dengan api kecil hingga suhu 70°C, kemudian ditambahkan getah buah pepaya sampai terjadi penggumpalan (*curd*). Gumpalan yang terbentuk disaring dan dimasukkan ke dalam cetakan yang terbuat dari tempurung kelapa sambil ditekan-tekan supaya cairannya terpisah. *Dangke* yang terbentuk kemudian dibungkus dengan daun pisang (Hatta *et al.*, 2013).

Penambahan Supernatan *L. plantarum* Sebagai Biopreservasi

Supernatan yang digunakan berasal dari fermentasi *L. plantarum* yang telah diuji

aktivitas antibakterinya. Perlakuan penambahan biopreservasi ke dalam *dangke* dilakukan dengan cara menambahkan supernatan *L. plantarum* sebagai perlakuan dan tanpa ditambahkan supernatan *L. plantarum* sebagai kontrol negatif.

Mengukur Kadar Lemak dalam Krim

Kadar lemak dalam krim terlebih dahulu ditentukan dengan metode Kiefferle dan Charlotte (Sudarwanto, 2012). Untuk mengukur kadar lemak dalam krim dibutuhkan nilai kadar air krim. Cawan porselen kering ditimbang kemudian dimasukan 5 g krim ke dalamnya dan ditimbang kembali untuk memperoleh bobot krim dalam cawan. Sampel dipanaskan sampai terbentuk warna kecokelatan pada endapan yang bukan lemak lalu didinginkan dalam eksikator. Kemudian berat cawan porselen ditimbang beserta sisa krim yang telah diuapkan airnya. Pengerjaan tersebut diulang beberapa kali hingga mendapatkan bobot krim yang konstan. Setelah diperoleh bobot krim yang konstan kemudian dihitung kadar airnya untuk kemudian menghitung kadar lemak krim dengan rumus: Kadar lemak dalam krim (%) = 100% – (kadar air x 1,1)%. Setelah diketahui kadar lemak dalam krim, kemudian dihitung kebutuhan krim yang akan ditambahkan ke dalam susu sapi untuk menetapkan penambahan lemak 1% dan 2%.

Analisis Proksimat *Dangke*

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kadar air dan kadar abu dengan metode gravimetri, kadar lemak dengan metode hidrolisis-Soxhlet, kadar protein dengan metode Kjeldahl mikro (SNI, 1992 dalam Geantaresa dan Supriyanti, 2010). Pengukuran juga dilakukan terhadap kadar karbohidrat (*By difference*), dan pH (SNI, 1998 dalam Rahayu *et al.*, 2011).

Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri Uji

Jumlah koloni dinyatakan dengan *colony forming unit* (cfu) per gram atau per mL atau luasan tertentu dari contoh (cm²) (Haryadi *et al.*, 2013). Perhitungan dilakukan menurut ketentuan *Standard Plate Count* (SPC). Perhitungan terhadap *E. coli* dilakukan dengan menggunakan metode tuang pada medium *Violet Red Bile*/VRB agar (Oxoid, Oxoid Ltd., Basingstoke, United Kingdom),

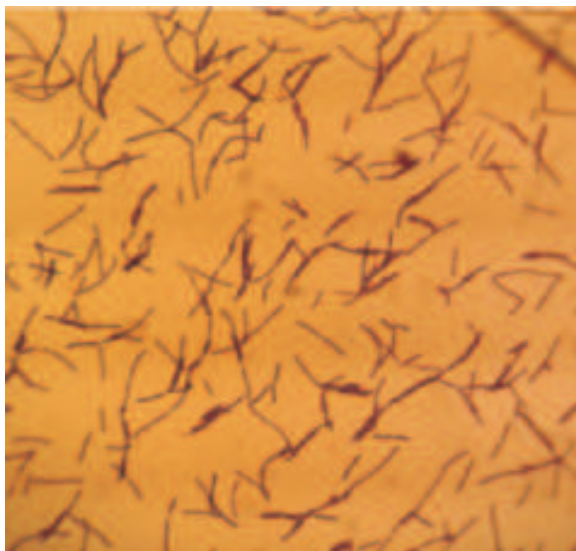
Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Nilai KHM ditetapkan berdasarkan nilai konsentrasi terendah supernatan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan dalam media. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial 2x2. Faktor I: penambahan supernatan *L. plantarum* (dengan penambahan dan tanpa penambahan supernatan) dan faktor II: penambahan kadar lemak (1% dan 2%) dan waktu pengamatan dilakukan pada hari ke-0, 2, 4, 6, dan 8. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan apabila hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konfirmasi isolat *L. plantarum* dan *E. coli* ATCC 25922 bertujuan agar diperoleh koloni yang seragam dan murni. Ray dan Bhunia (2007) melaporkan bahwa hasil identifikasi terhadap *E. coli* ATCC 25922 ditemukan bakteri berbentuk batang, seragam, dan termasuk bakteri Gram negatif yang ditunjukkan dengan warna merah.

Hasil pewarnaan Gram terhadap *L. plantarum* menunjukkan morfologi mikroskopis berupa bakteri Gram positif dan berbentuk batang. Hasil uji biokimia menunjukkan katalase negatif dan dapat tumbuh baik pada medium MRS agar (Gambar 1). Hasil identifikasi



Gambar 1. Hasil uji morfologi *Lactobacillus plantarum* menggunakan teknik pewarnaan Gram.

menggunakan uji API 50 CHL *system* (Biomerieux) menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah *L. plantarum* dengan validasi 99,9% (Gambar 2). Identifikasi terhadap *L. plantarum* dilakukan menggunakan uji API, seperti sebelumnya dilaporkan oleh Anas *et al.* (2015).

Isolat *L. plantarum* memiliki kemampuan memfermentasi ribosa, glukosa, fruktosa, manosa, N-asetilglukosamin, amigdalin, arbutin, eskulin, salisin, sellobiosa, maltosa, laktosa, threhalosa dan B-getibiosa. Isolat *L. plantarum* diketahui memiliki kemampuan tumbuh pada kondisi asam yang tinggi. Kondisi asam disebabkan oleh akumulasi asam laktat yang diproduksi bakteri selama fermentasi. Produk asam inilah yang dapat digunakan sebagai bahan aktif pengawet makanan (Askari *et al.*, 2012). Cisarova (2009) melaporkan bahwa asam yang diproduksi *L. plantarum* mampu menghambat sejumlah bakteri Gram negatif seperti *Clostridium* dan *Enterobacteriaceae*,



Gambar 2. Hasil uji biokimia *L. plantarum* menggunakan API *test* dengan medium API 50 CHL V5.1 Biomerieux.

berbentuk batang dan kokus yang biasa merusak makanan.

Kadar Hambat Minimum Supernatan *L. plantarum*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setelah 24 jam, tidak ada pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 dalam seluruh tabung, kecuali tabung 1 (0%). Pertumbuhan ditandai adanya kekeruhan dalam media. Hasil pengamatan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 pada media VRB, terlihat adanya pertumbuhan pada cawan petri yang berisi larutan dari tabung 1 (konsentrasi supernatan *L. plantarum* 0%). Pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 pada media VRB ditandai dengan koloni berwarna ungu. Seluruh cawan petri yang diberi larutan dari tabung 2-10 (supernatan *L. plantarum* dalam berbagai konsentrasi) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Dari pengamatan tersebut disimpulkan bahwa konsentrasi

terendah untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25921 adalah 10%. Oleh karena itu kadar hambat minimum supernatan *L. plantarum* yang digunakan sebagai preservasi *dangke* adalah 10%. Supernatan *L. plantarum* merupakan hasil fermentasi oleh *L. plantarum* secara homofermentatif, yaitu sekitar 90% komponennya adalah asam laktat (Lawalata *et al.*, 2011). Asam laktat mampu mengurai membran bakteri serta mengasamkan lingkungan dalam sel, yang mengakibatkan keluarnya ion H⁺ dari sel bakteri. Menurut Rattanachaikunsopon dan Phumkhachorn (2010) efek antimikrob asam bekerja dengan cara merusak keutuhan membran sel, menghambat transportasi sel, menurunkan H⁺ intraseluler dan menghambat berbagai proses metabolisme.

Kadar Nutrisi *Dangke* Susu Sapi

Kadar nutrisi *dangke* yang diukur antara

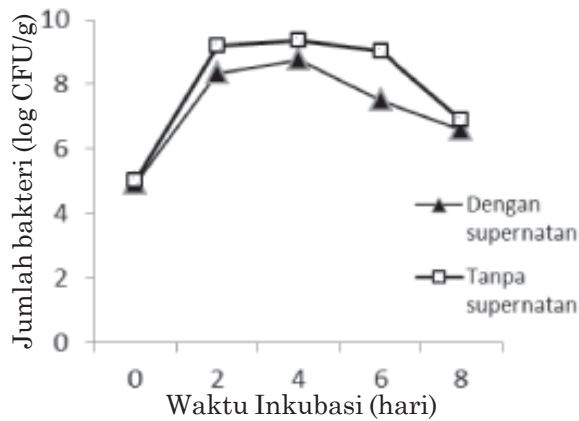
Tabel 1. Hasil pengamatan penentuan nilai kadar hambat minimum (KHM) Supernatan *Lactobacillus plantarum* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

| No | Kadar (% v/v) | Supernatan (mL) | NB (mL) | Hasil Uji <i>E. coli</i> ATCC 25922 | |
|----|---------------|-----------------|---------|-------------------------------------|--------------------|
| | | | | Keruh (K) / Jernih (J) | Pertumbuhan koloni |
| 1 | 0 | 0 | 4,5 | K | ++ |
| 2 | 10 | 0,5 | 4,0 | J | - |
| 3 | 20 | 1,0 | 3,5 | J | - |
| 4 | 30 | 1,5 | 3,0 | J | - |
| 5 | 40 | 2,0 | 2,5 | J | - |
| 6 | 50 | 2,5 | 2,0 | J | - |
| 7 | 60 | 3,0 | 1,5 | J | - |
| 8 | 70 | 3,5 | 1,0 | J | - |
| 9 | 80 | 4,0 | 0,5 | J | - |
| 10 | 90 | 4,5 | 0 | J | - |

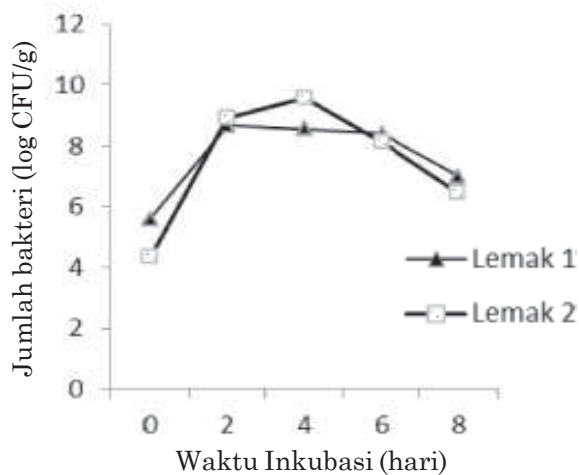
Tabel 2. Hasil analisis proksimat *dangke* susu sapi dengan penambahan supernatan *Lactobacillus plantarum* dan lemak 0%, 1%, dan 2%.

| No | Jenis uji | Hasil uji proksimat | | |
|----|----------------------------|---------------------|--------------|--------------|
| | | DSSL0 | DSSL1 | DSSL2 |
| 1 | Kadar air (g/100g) | 60,65 ± 0,11 | 58,39 ± 0,13 | 59,10 ± 0,03 |
| 2 | Kadar abu (g/100g) | 1,94 ± 0,006 | 1,72 ± 0,003 | 1,61 ± 0,007 |
| 3 | Kadar lemak (g/100g) | 17,31 ± 0,04 | 24,47 ± 0,03 | 22,96 ± 0,01 |
| 4 | Kadar protein (g/100g) | 15,42 ± 0,11 | 14,80 ± 0,07 | 13,19 ± 0,12 |
| 5 | Kadar karbohidrat (g/100g) | 4,68 | 0,62 | 3,14 |
| 6 | Energi (kkal/100g) | 236 | 282 | 273 |
| 7 | pH | 6,51 | 6,08 | 6,11 |

Keterangan: DSSL0 = *Dangke* Susu Sapi; DSSL1 = *Dangke* Susu Sapi + lemak 1%; DSSL2 = *Dangke* Susu Sapi + lemak 2%.



Gambar 3. Pengaruh interaksi supernatan *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.



Gambar 4. Pengaruh interaksi penambahan lemak susu sapi dengan waktu terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

lain: kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, kadar karbohidrat, energi, dan pH (Tabel 2). Kadar air merupakan faktor yang sangat penting untuk menentukan tekstur dangke. Hasil uji proksimat terhadap kadar air ketiga jenis *dangke* menunjukkan kadar air yang tinggi (masing-masing 60,65%, 58,39%, dan 59,10%). Kadar air ketiga jenis *dangke* tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kadar air yang dilaporkan Hatta *et al.* (2013) yang berkisar 55%. Tingginya kadar air tersebut diduga karena penggunaan konsentrasi getah pepaya yang digunakan adalah 0,1% sedangkan Hatta *et al.* (2013) menggunakan konsentrasi 0,3%. Kadar air *dangke* dipengaruhi oleh pemberian konsentrasi getah pepaya. Semakin

tinggi pemberian konsentrasi getah pepaya menyebabkan kadar air cenderung makin menurun (Diouf *et al.*, 2012). Konsentrasi getah pepaya yang rendah pada penelitian ini menyebabkan *curd* yang terbentuk kurang kompak karena banyak mengikat air. Penelitian ini menggunakan getah pepaya dengan konsentrasi 0,1% agar *dangke* yang terbentuk tidak terlalu pahit ketika dikonsumsi (Yuniwati *et al.*, 2008). Alkaloid karpain pada getah pepaya memberi pengaruh rasa pahit pada *dangke*.

Kadar abu *dangke* tanpa penambahan lemak memiliki nilai tertinggi (1,94%), diikuti *dangke* dengan penambahan lemak 1% (1,72%). *Dangke* dengan penambahan lemak 2% memiliki kadar abu yang paling rendah (1,61%). Kadar abu menunjukkan kadar mineral yang terdapat pada bahan pangan (Murtaza *et al.*, 2014). Selain kadar mineral, kadar abu *dangke* dipengaruhi oleh kadar protein yang terkandung di dalamnya. Partikel koloid susu mengandung kalsium, magnesium, fosfat, dan sitrat. Partikel koloid tersebut mengendap dengan *dadih* jika susu dikoagulasikan. Dengan demikian *dangke* tanpa penambahan lemak yang memiliki kadar protein paling tinggi, memiliki kadar abu yang tinggi pula.

Penambahan lemak susu terbukti dapat meningkatkan kadar lemak *dangke*. Hussain *et al.* (2012), menyatakan bahwa protein berada pada lapisan luar membran globula lemak. Makin tinggi kandungan protein dalam susu, maka makin banyak jumlah lemak yang dapat diikat dan dipertahankan dalam keju, sehingga semakin tinggi kadar lemak yang dihasilkan. Namun, kadar lemak *dangke* dengan penambahan lemak 2% memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan *dangke* yang ditambah lemak 1%. Menurut Mona *et al.* (2011), lemak dapat keluar dari *curd* dan larut ke dalam *whey* karena pemanasan saat pembuatan keju. *Dangke* termasuk salah satu jenis keju lunak yang pembuatannya tidak jauh berbeda dengan keju. Terdapat kemungkinan lemak keluar dari *dangke* saat pemanasan apabila suhu lebih dari 80°C. Oleh karena itu semakin tinggi temperatur atau semakin lama proses pemanasan maka semakin besar kemungkinan lemak yang keluar dari *curd* dan larut dalam *whey*.

Kadar protein *dangke* dengan penambahan lemak 2% memiliki nilai yang paling rendah (13,19%), sedangkan *dangke* tanpa penambahan lemak memiliki kadar protein tertinggi (15,42%) di antara ketiga jenis *dangke*. Protein yang terbentuk berkaitan erat dengan proses

penggumpalan protein susu (koagulasi) hingga terbentuk *curd*. Syah (2012) menyatakan bahwa tahapan penggumpalan susu merupakan tahap yang paling sulit dikendalikan. Hal tersebut disebabkan oleh interaksi kompleks antara kualitas susu, suhu pemasakan, volume susu, pH, jenis dan jumlah koagulan, serta lamanya koagulasi. Kadar protein *dangke* dalam penelitian ini memiliki nilai yang beragam, diduga karena lamanya pemanasan yang tidak sama selama proses pembuatan.

Nilai pH ketiga jenis *dangke* berada pada kisaran pH mendekati netral. Meskipun dalam proses pengolahannya ditambahkan supernatan *L. plantarum* dengan pH ± 3,8, namun susu mampu mempertahankan kondisi pH. Hal tersebut terjadi karena dalam susu terlarut senyawa fosfat, sitrat, dan protein yang merupakan buffer alami.

Pengaruh Penambahan Supernatan *L. plantarum* dan Lemak Susu Sapi terhadap Jumlah Koloni Bakteri Patogen pada *Dangke*

Hasil penghitungan jumlah koloni *E. coli* ATCC 25922 (Tabel 3) dianalisis dengan sidik ragam. Hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh signifikan terhadap jumlah koloni bakteri antara lain: supernatan *L. plantarum*, waktu inkubasi (hari), interaksi supernatan dengan waktu, interaksi penambahan lemak dengan waktu, dan interaksi antara supernatan, penambahan lemak, dan waktu. Hasil analisis menunjukkan tidak ada pengaruh, antara lain: penambahan lemak susu sapi (1% dan 2%); serta interaksi antara penambahan supernatan *L. plantarum* dengan penambahan lemak susu sapi 1% dan 2%.

Hasil uji lanjut Duncan terhadap pengaruh supernatan *L. plantarum* menunjukkan bahwa *dangke* tanpa penambahan supernatan *L. plantarum* menghasilkan jumlah koloni *E. coli* ATCC 25922 yang lebih banyak dibandingkan dengan *dangke* dengan penambahan supernatan *L. plantarum*. Hal tersebut berarti bahwa penambahan supernatan *L. plantarum* ke dalam *dangke* mampu menekan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922. Supernatan *L. plantarum* yang bersifat asam merupakan produk fermentasi karbohidrat oleh *L. plantarum* yang dipecah menjadi asam laktat. Asam laktat mampu mengurai membran bakteri serta mengasamkan lingkungan dalam sel yang mengakibatkan keluarnya ion H⁺ dari sel bakteri (Rattana-chaikunsopon dan Phumkhachorn, 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antimikrob supernatan *L. plantarum* pada *dangke* mampu bekerja walaupun pH *dangke* mendekati netral.

Pengaruh interaksi supernatan *L. plantarum* dengan waktu terhadap jumlah koloni *E. coli* ATCC 25922 berdasarkan hasil uji lanjut Duncan disajikan pada Gambar 3. Pada Gambar 3 disajikan bahwa pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 membentuk kurva sigmoid yang mencapai pertumbuhan maksimum pada hari ke-4. Berdasarkan gambar tersebut juga diperoleh bahwa kurva pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 tanpa penambahan supernatan *L. plantarum* memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan supernatan *L. plantarum*. Hal tersebut disebabkan karena supernatan *L. plantarum* yang bersifat asam bekerja dengan merusak keutuhan membran sel, menghambat transportasi sel, menurunkan pH intraseluler,

Tabel 3. Pengaruh penambahan supernatan *Lactobacillus plantarum* dan lemak susu sapi pada *dangke* terhadap jumlah koloni *Escherichia coli* ATCC 25922 (Log cfu).

| Perlakuan | Waktu inkubasi (hari) | | | | |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Dengan supernatan | | | | | |
| Lemak 1% | 5,03 ⁱ ± 1,2 | 8,21 ^{dc} ± 0,6 | 8,20 ^{dc} ± 0,2 | 7,88 ^{ed} ± 0,4 | 6,78 ^{hfg} ± 0,5 |
| Lemak 2% | 4,84 ⁱ ± 1,1 | 8,5 ^{bdc} ± 0,2 | 9,32 ^{ba} ± 0,3 | 7,13 ^{efg} ± 0,1 | 6,38 ^{hg} ± 0,2 |
| Tanpa supernatan | | | | | |
| Lemak 1% | 6,16 ^h ± 0,7 | 9,14 ^{ba} ± 0,4 | 8,93 ^{bac} ± 0,6 | 8,90 ^{bc} ± 0,2 | 7,25 ^{ef} ± 0,7 |
| Lemak 2% | 3,89 ^j ± 0,5 | 9,28 ^{ba} ± 0,4 | 9,78 ^a ± 0,2 | 9,13 ^{ba} ± 0,4 | 6,55 ^{hfg} ± 0,6 |

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji sidik ragam).

dan menghambat berbagai proses metabolisme. Lindgren dan Dobrogosz (1990) menyatakan bahwa asam organik dari bakteri asam laktat akan terionisasi dalam sitoplasma, sehingga menyebabkan penurunan pH. Hal tersebut menyebabkan terganggunya gradien proton elektrokimia dan selanjutnya terjadi kerusakan sistem transpor, akibatnya sel kekurangan energi dan mengalami kematian.

Hasil uji lanjut Duncan terhadap pengaruh interaksi antara penambahan lemak dengan waktu terhadap pertumbuhan bakteri uji menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan lemak 2% ke dalam *dangke* memiliki nilai tertinggi (Gambar 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan lemak 2% ke dalam *dangke* lebih mendukung pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 dibanding penambahan lemak 1%. Hal tersebut diduga karena kadar karbohidrat *dangke* yang ditambahkan lemak 2% lebih tinggi dibanding *dangke* yang ditambah lemak 1%. Bakteri *E. coli* memerlukan karbohidrat yang cukup untuk pertumbuhannya. Kebutuhan karbohidrat tersebut diperoleh dari laktosa yang terkandung dalam *dangke*. Tharmaraj dan Shah (2009) melaporkan bahwa *E. coli* dapat tumbuh dengan baik pada medium yang mengandung kecukupan glukosa sebagai sumber nutrisi organik.

SIMPULAN

Supernatan hasil fermentasi *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 secara *in vitro* dengan KHM 10%. Kadar lemak dan protein pada *dangke* yang ditambah lemak susu sapi 1% lebih tinggi dibandingkan dengan yang ditambah lemak susu sapi 2%. Supernatan *L. plantarum* terbukti mampu menekan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biopreservasi alami *dangke*.

SARAN

Saran bagi penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan guna mengetahui kadar asam laktat dalam supernatan *L. plantarum*. Selain itu perlu dilakukan pengkajian ulang terhadap penambahan lemak susu sapi ditambahkan pada tahap *curd* sudah terbentuk. Perlu juga dilakukan uji antimikrob supernatan *L. plantarum* terhadap mikrob

patogen lain selain *E. coli* ATCC 25922 yang umum tumbuh pada *dangke*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Indonesia Maju (STIKIM), Lenteng Agung, Jakarta Selatan dan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI), Kementerian Pendidikan yang telah membiayai pendidikan pascasarjana penulis pertama.

DAFTAR PUSTAKA

- Anas M, Ahmed K, Mebrouk K. 2014. Study of the antimicrobial and probiotic effect of *Lactobacillus plantarum* (P6) isolated from raw goat's milk from the region of Western Algeria. *World Appl Sci J* 32(7): 1304-1310.
- Askari GA, Kahouadji A, Khedid K, Reda C, Mennane Z. 2012. Screenings of Lactic Acid Bacteria isolated from dried fruits and study of their antibacterial activity. *Middle-East Journal of Scientific Research* 11(2): 209-215.
- Cisarova B, Koscova H, Dubajova J, Mlynarcik D, Bukovsky M. 2009. Probiotic characteristics of newly isolated strains of *Lactobacillus plantarum*. *Tomus Acta Fac Pharm Univ Comen* 56: 54-66.
- Diouf L, Mallaye NA, Mbengue M, Kane A, Diop A. 2012. *Carina papaya* leaves: a substitute for animal rennet in cheese-making tradition. *J Nat Prod Plant Resour* 2(4): 517-523.
- Geantaresa E, Supriyanti FMT. 2010. Pemanfaatan ekstrak kasar papain sebagai koagulan pada pembuatan keju cottage menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia* 1(1): 38-43.
- Haryadi, Nurliana, Sugito. 2013. Nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat kefir susu kambing setelah difermentasi dengan penambahan gula dengan lama inkubasi yang berbeda. *Jurnal Medika Veterinaria* 7(1): 4-7.
- Hatta W, Sudarwanto M, Sudirman I, Malaka R. 2013. Prevalence and sources of

- contamination of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in cow milk *dangke*, Indonesian fresh soft cheese. *Global Veterinaria* 1(3): 352-356.
- Hussain I, Bell AE, Alistair S, Grandison. 2012. Rheology and microstructure of mozzarella type curd made from buffalo and cows' milk. *Ann Trans Nord Rheo Soc* 20: 132-140.
- Khoiriyah H, Ardiningsih P, Jayuska A. 2014. Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED4. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 3(4): 7-12.
- Lawalata HJ, Sembiring L, Rahayu ES. 2011. Molecular identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial agents from bakasang, an Indonesian traditional fermented fish product. *Indonesian Journal of Biotechnology* 16(2): 93-99.
- Lindgren SE, Dobrogosz WJ. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *Federation of European Microbiological Societies Microbiol Letters* 7: 149-163.
- Mona AM, El-Gawad A, Ahmed NS. 2011. Cheese yield as affected by some parameters review. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 10(2): 131-153.
- Murtaza MA, Huma N, Sameen A, Saeed M, Murtaza MS. 2014. Minerals and lactic acid contents in buffalo milk cheddar cheese; a comparison with cow. *Journal of Food and Nutrition Research* 2(8): 465-468.
- Paxson H. 2008. Post-pasteurization cultures: the microbiopolitics of raw-milk cheese in the United States. *Cultural Anthropology* 23(1):15-47.
- Rahayu WP, Kusnandar F, Prayitno WE. 2011. Stability of viable counts of Lactic Acid Bacteria during storage of goat milk soft cheese. *Microbiology Indonesia* 4: 149-153.
- Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann Biol Res* 1(4): 218-228.
- Ray B, Bhunia A. 2007. *Fundamental Food Microbiology*. 4th ed. Boca Raton. New York. CRC Press.
- Sari YD, Djannah SN, Nurani LH. 2010. Uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara in vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta profil kromatografi lapis tipisnya. *Kesehatan Masyarakat* 218-232.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia (ID). 7388:2009. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Sudarwanto M. 2012. *Pemeriksaan Susu dan Produk Olahannya*. Bogor. IPB Press. Hlm. 88-89.
- Syah D. 2012. *Pengantar Teknologi Pangan*. Bogor. IPB Press. Hlm. 143-148.
- Tharmaraj N, Shah NP. 2009. Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *International Food Research Journal* 16: 261-276.
- Usmiati S, Marwati T. 2007. Seleksi dan optimasi proses produksi bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. *Jurnal Pascapanen* 4(1): 27-37.
- Yuniwati M, Yusran, Rahmadany. 2008. Pemanfaatan enzim papain sebagai penggumpal dalam pembuatan *dangke*. *Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi* 127-133.