

PENYIAPAN STARTER KERING BAKTERI ASAM LAKTAT HALOFILIK UNTUK PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN FERMENTATIF BERGARAM

(PREPARATION OF DRY STARTER FROM LACTIC ACID BACTERIA (LAB) FOR SALTED FISH
PRODUCT FERMENTATION)

Ustadi¹⁾, Suparmo²⁾ dan Endang S. Rahayu²⁾

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) is known as fermentation agent in traditional food fermentation products in Indonesia, which also include fish products. Objectives of this research were to select LAB strain isolated from peda, terasi, salted fish and bekasam which were potential for dry starter preparation.

This research were consisted of three parts : (a) selection of halophilic LAB strain (b) dry starter preparation by addition glycerol protectant, sucrose and starter neutralization and further testing its viability upon storage and (c) ability of the selected isolate to inhibit pathogenic and spoilage bacteria.

*Results of this research indicated there were 8 moderate halophilic LAB, they were *Lb. plantarum* (isolate EDI-14, DES-20, DES-21, DES-24 and DES-26), *Leuc. paramesenteroides* (isolate DAN-7 and DAN-7), and *Lb. casei subsp. casei* (isolate DES-27). Addition of 5 % glycerol protects LAB viability during freeze drying process, however it did not keep its viability during storage. Addition of 17.7 % sucrose in the media and neutralized the pH increase LAB viability during storage. Within 5 weeks of storage. The viability of *Leuc. paramesenteroides* (DAN-7) and *Lb. plantarum* (DES-26) decrease 10.4 % (from 33×10^7 sel/g to 3.3×10^7 sel/g dried starter) and 9.77 % (from 36×10^7 sel/g to 3.5×10^7 sel/g dried starter), respectively. Freeze drying process and dry storage did not affect the LAB isolate towards inhibiting the pathogenic bacteria and spoilage bacteria such as *Salmonella choleraesuis* JCM 3919, *Shigella*, *Escherichia coli* FNCC 0091, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147 (gram negative), *Staphylococcus aureus* FNCC 0091, and *Morganella morganii* NCTC 2847 (gram positive).*

Keywords: dry starter, lactic acid bacteria, fermented fish

PENDAHULUAN

Hasil olahan tradisional perikanan banyak diminati konsumen, disamping karena harganya relatif murah juga karena beberapa olahan ikan tradisional yang bersifat fermentatif memberikan aroma yang khas. Seperti misalnya peda, terasi, kecap ikan, bekasam, wandi dll. Menurut Cha dan Cadwallader (1995) degradasi oleh enzim otolitik dan enzim dari bakteri terhadap makro molekul protein, lemak dan karbohidrat

menjadi aldehid, keton, ester dan beberapa peptida sederhana memberi kontribusi terhadap aroma khas olahan ikan fermentatif tersebut.

Akan tetapi terdapat beberapa kekurangan pada bahan pangan tersebut yaitu salah satunya mutu yang tidak stabil atau tidak seragam. Bahkan sering hasil olahan tradisional perikanan yang dipasarkan mutunya sangat rendah dan membahayakan konsumen yang ditunjukkan dengan tingginya kadar total basa menguap (TVB) dan histamin dari bahan pangan tersebut. Seperti yang dikemukakan oleh Kanoni, dkk. (1988), bahwa kadar histamin peda yang dipasarkan di Yogyakarta sangat tinggi yaitu berkisar antara 107,32 – 133,43 mg/100g, jauh diatas kadar maksimum histamin yang diperbolehkan (50 mg/100 g).

Permasalahan rendahnya mutu hasil olahan peda seperti tersebut di atas terjadi juga pada pengolahan ikan secara fermentatif lainnya (terasi, bekasam dll.). Hal ini terjadi karena pada pengolahan ikan secara tradisional umumnya proses fermentasi berlangsung secara spontan (tanpa inokulum atau starter bakteri yang dikehendaki), sehingga bakteri pembusuk dan penghasil histamin serta bakteri patogen tumbuh cepat mendahului pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal ini disebabkan populasi awal BAL rendah yaitu hanya sekitar 5 % dari total flora bakteri dalam ikan Morzel dkk. (1997).

Atas dasar permasalahan diatas, maka perlu dilakukan penelitian yang mendalam terhadap bakteri asam laktat (BAL) yang ada dalam ikan hasil olahan fermentatif yang mengarah pada teknologi pembuatan starter BAL untuk memperbaiki proses fermentasi tersebut, sehingga diperoleh hasil olahan yang bermutu tinggi dan aman dikonsumsi. Penelitian ini dimaksudkan menyeleksi BAL yang potensial untuk dibuat starter kering, sebagai langkah awal untuk mendapatkan teknologi pembuatan starter yang murah dan mudah diaplikasikan oleh pengguna.

Kets *et. al.* (1996) mempunyai dugaan bahwa kemampuan bakteri bertahan hidup pada keadaan kering selaras dengan kemampuan bakteri tersebut tumbuh pada media bertekanan osmotik tinggi, karena aktivitas air (*aw*) kedua lingkungan tersebut rendah dan dapat dihadapi dengan osmoprotektan yang terakumulasi dalam

¹⁾ Fakultas Pertanian UGM

²⁾ Fakultas Teknologi Pertanian UGM

sitoplasma. Dari penelitiannya, Kets *et al.* (1996) menerangkan semakin banyak betaine (*amine N,N,N-trimethylglycine*) yang diakumulasi oleh BAL dalam sitoplasma semakin tahan terhadap kondisi kering. *Lactobacillus plantarum* yang mengakumulasi betaine sebanyak 42 μ mol/g berat kering sel viabilitasnya hanya sebesar 1,9 %, sedangkan yang mengakumulasi betaine sebanyak 192 μ mol/g berat kering sel viabilitasnya sebesar 26%. *Enterococcus faecium* yang mengakumulasi betaine sebanyak 47 μ mol/g berat kering sel viabilitasnya hanya sebesar 38,7%, sedangkan yang mengakumulasi betaine sebanyak 1391 μ mol/g berat kering sel viabilitasnya sebesar 66,1 %. Viabilitas *E. faecium* yang lebih besar dibanding *L. plantarum* kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya mengakumulasi senyawa osmoprotektan lain selain betaine seperti asam amino prolin, beberapa karbohidrat dan ion K^+ . Atas dasar hasil penelitian tersebut Kets *et al.* (1996) menduga bahwa bakteri asam laktat kemungkinan dapat dibuat starter kering.

Umumnya pengolahan ikan secara fermentatif disertai dengan proses penggaraman atau penambahan garam. Garam (NaCl) merupakan bahan terlarut yang menyebabkan lingkungan bakteri (baik berupa bahan pangan atau media) aktivitas airnya (*aw*) rendah (Brown, 1976). Ketahanan tumbuh bakteri pada media berkadar garam diklasifikasikan dalam 4 kategori *non-halophiles* (< 1 % NaCl), *mild halophiles* (1 – 6 %), *moderate halophiles* (6 – 15%) dan *extremly halophiles* (15 – 30%) (Madigan, dkk. 1997). Perbedaan ketahanan terhadap kadar NaCl tersebut disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan bakteri dalam mengakumulasi senyawa-senyawa osmoprotektan yang juga digunakan oleh bakteri untuk melawan kondisi lingkungan yang kering (Hutkin, dkk., 1987). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan seleksi bakteri asam laktat halofilik sebagai tujuan awal sebelum membuat starter kering.

Senyawa penghambat pertumbuhan bakteri lain hasil metabolisme bakteri asam laktat seperti asam laktat dan H_2O_2 , mekanisme produksinya diatur oleh gen-gen dalam kromosom. Sedangkan diasetil dan bakteriosin mekanisme produksinya diatur oleh gen-gen dalam plasmid yang relatif peka terhadap perubahan lingkungan termasuk keadaan kering atau *aw* rendah (McClure, dkk., 1989). Sehingga dimungkinkan bakteri asam laktat dalam starter kering kemampuan penghambatan terhadap bakteri lain berkurang. Oleh karena itu dalam penelitian ini juga dilakukan uji penghambatan terhadap bakteri patogen dan pembusuk.

METODE PENELITIAN

Bahan

Isolat bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Food and Nutrition Culture Collection (FNCC) PAU Pangan dan Gizi UGM, yaitu *Streptococcus thermophilus* (8 isolat), *Lactobacillus plantarum* (8 isolat), *Lactobacillus plantarum subsp. pentosaceus* (2 isolat), *Lactobacillus acidophilus* (2 isolat), *Lactobacillus casei subsp. casei* (1 isolat),

Leuconostoc paramesenteroides (6 isolat), *Lactococcus plantarum* (1 isolat) dan *Pediococcus pentosaceus* (1 isolat). Bakteri-bakteri asam laktat tersebut merupakan hasil isolasi dari produk ikan terfermentasi yaitu peda, terasi, bekasam dan ikan asin.

Selama penelitian media yang digunakan adalah Peptone Glucose Yeast Extract (PGY), media ekstrak sawi dan Nutrien Broth (NB) dan Nutrien Agar (NA). Media PGY Agar digunakan untuk pembuatan stok kultur murni bakteri asam laktat. PGY Broth digunakan untuk uji pertumbuhan bakteri asam laktat pada kondisi halofil (dengan menambah 13 % NaCl) dan untuk produksi sel (dengan menambah 3% NaCl) saat pengujian ketahanan kering atau pembuatan starter kering. Media ekstrak sawi digunakan sebagai media alternatif yang murah untuk memproduksi biomasa sel BAL. Media PGY Soft Agar digunakan untuk menghitung sel bakteri asam laktat yang masih hidup baik sebelum maupun setelah mengalami perlakuan pengeringan dan penyimpanan kering (uji viabilitas). Nutrien Broth (NB) dan Nutrien Agar (NA) digunakan untuk kultur dan uji penghambatan bakteri patogen dan pembusuk.

Cara Penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu, tahap seleksi bakteri asam laktat (BAL) halofilik, tahap produksi biomasa sel BAL dalam berbagai media produksi, tahap pembuatan starter kering, tahap pengamatan viabilitas sel BAL dan tahap uji aktivitas penghambatan BAL dari starter terhadap beberapa bakteri pembusuk dan patogen.

Seleksi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Percobaan ini dilakukan untuk menyeleksi BAL yang dapat tumbuh pada media Pepton Glukosa Yeast-ekstrak (PGY) + 13 % NaCl (BAL halofilik moderat). Kultur 30 isolat bakteri asam laktat pada media PGY Broth umur 24 jam masing - masing secara aseptis (0,2 ml) diinokulasikan pada 2,5 ml media PGY Broth yang mengandung 13 % NaCl dan tanpa NaCl sebagai kontrol. Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 24 – 48 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat timbul tidaknya kekeruhan pada media yang telah diinokulasi isolat-isolat bakteri tersebut.

Produksi biomasa sel

Biomasa bakteri asam laktat yang akan dibuat starter kering diproduksi pada tiga macam media yaitu : (1) media ekstrak sawi + 1 % yeast ekstrak + 0,5 % NaCl, (2) media PGY Broth + 3 % NaCl dan (3) media PGY Broth + 3 % NaCl + 17,7% sukrosa. Media pertama digunakan untuk mengetahui pengaruh media produksi yang relatif murah terhadap viabilitas starter kering BAL. Sedangkan media kedua digunakan untuk mengetahui pengaruh penambahan NaCl dan media ketiga untuk mengetahui pengaruh penambahan NaCl dan Sukrosa terhadap viabilitas starter kering BAL. Sebelum dilakukan uji ketahanan kering terhadap biomasa bakteri asam laktat (BAL), terlebih dahulu

dilakukan percobaan pola pertumbuhan isolat yang terpilih (BAL halofilik moderat) pada ketiga macam media tersebut untuk mengetahui waktu terjadinya awal fase pertumbuhan stasioner yang akan ditetapkan sebagai waktu panen biomasa BAL.

Pembuatan starter kering

Pembuatan starter kering dilakukan dengan mencampur 6 ml kultur BAL yang dipanen dari ketiga media produksi biomasa tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 2 g tepung beras steril, kemudian dihomogenkan dengan vortex, selanjutnya dimasukkan secara aseptis kedalam cawan petri steril, dibekukan pada suhu -40°C selama 1 malam dilanjutkan dengan pengeringan vakum (tekanan 0,1 Torr, selama ± 2 hari). Setelah kering cawan petri berisi starter disimpan dalam desikator yang berisi silika gel kering. Perlakuan penambahan gliserol dan pH netral dilakukan sebelum dibekukan.

Pengamatan viabilitas BAL

Pengamatan sel yang masih hidup pada starter kering dilakukan dengan melarutkan $\pm 0,3$ g sampel dengan 0,9 ml larutan buffer posphat pH 6,2 + 0,5 % NaCl steril, kemudian divortek hingga homogen, selanjutnya diambil 0,1 ml untuk dilakukan seri pengenceran. Kemudian 0,1 ml dari tiga atau empat seri pengenceran tersebut diinokulasikan kedalam media PGY+CaCO₃ agar secara *pour plate*. Koloni bakteri yang tumbuh dengan zone jernih setelah diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam adalah BAL yang masih hidup dalam starter kering.

Uji Penghambatan

Prosedur pengujiannya, ± 5 ml Nutrien Agar suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ dituangkan ke dalam petridis steril. Setelah menjendal, kedalamnya dituang campuran 0,05 ml kultur bakteri patogen atau pembusuk dalam media Nutrien Broth umur 24 jam dengan 5 ml Nutrien Agar Soft suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, diinkubasi dalam *cool room* selama 1 jam. Selanjutnya 0,05 ml kultur BAL baik dari stok maupun dari starter kering dimasukkan kedalam sumuran *stainless steel* berbentuk silindris berdiameter $\pm 0,7$ cm dan berlubang di bagian atas serta bawah yang sebelum diletakkan secara aseptis kedalam cawan petri. Kemudian diinkubasi dalam *cool room* selama 1 jam dan akhirnya diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 30°C . Zone jernih yang terbentuk menunjukkan adanya penghambatan BAL terhadap pertumbuhan bakteri-bakteri patogen dan pembusuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) Halofilik

Hasil seleksi menunjukkan tiga isolat bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari olahan ikan fermentatif peda tidak ada yang dapat tumbuh pada media Pepton Glukosa Yeast-ekstrak (PGY) + 13% NaCl. Sedangkan enam isolat yang berasal dari olahan ikan/udang

fermentatif terasi hanya 1 isolat yang dapat tumbuh pada media tersebut, yaitu *Lb. plantarum* (EDI-14). Sementara 12 isolat BAL ikan asin yang diseleksi dua diantaranya dapat tumbuh pada media tersebut, yaitu *Leuc. paramesenteroides* (DAN-6 dan DAN-7). Kemudian dari 7 isolat BAL yang berasal dari bekasam 5 diantaranya dapat tumbuh pada media PGY + 13% NaCl, yaitu *Lb. plantarum* (DES-20, DES-21, DES-24 dan DES-26) dan *Lb. casei* subsp. *casei* (DES-27).

Teknik pengolahan yang berbeda antara peda, terasi, ikan asin dan bekasam menyebabkan kondisi ekologisnya berbeda, sehingga flora bakteri yang tumbuh juga berbeda. Kadar air yang masih tetap tinggi (50-60 %) pada produk akhir peda (Purwoko, 1985) memberikan kondisi *aw* yang masih cukup tinggi jika dibanding ikan asin yang kadar airnya rendah (± 35 %) (Rahmiati, 1988). Hal ini menyebabkan tidak ada BAL dari peda yang dapat tumbuh pada media PGY + 13 % NaCl.

Perlakuan pengeringan/penjemuran pada pengolahan ikan asin dan terasi menyebabkan *aw* produk tersebut rendah, sehingga ada dua isolat BAL dari ikan asin yang mampu tumbuh pada media tersebut yaitu *Leuc. paramesenteroides* (DAN-6 dan DAN-7) dan ada satu isolat BAL dari terasi yang mampu tumbuh pada media PGY + 13 % NaCl yaitu *Lb. plantarum* (EDI-14).

Pemberian garam hingga mencapai 20%, penambahan beras sangrai tumbuk 10% (Rosaria, 1999), penambahan tape ketan 25 % (Murtini, 1991) pada pengolahan bekasam menyebabkan *aw*-nya relatif rendah. Oleh karena itu BAL yang terisolasi dari bekasam banyak yang mampu tumbuh pada media PGY + 13 % NaCl.

Menurut Hutkins, dkk. (1987) kemampuan isolat-isolat BAL tumbuh pada media yang osmotisitasnya tinggi seperti di atas ada hubungannya dengan kemampuan bakteri-bakteri tersebut mengakumulasi senyawa-senyawa osmoprotektan seperti betaine, asam amino, karbohidrat dan ion tertentu dalam sitoplasmanya. Kets dkk. (1996) menduga terakumulasinya senyawa osmoprotektan dalam sitoplasma akan menyebabkan BAL mampu melawan kondisi kering sehingga memungkinkan dapat dibuat starter kultur kering, sebagaimana yang dilakukan oleh Caesar dan Burr (1991) pada bakteri *Rhizobium*.

Penyiapan Starter Kering BAL

1. Pertumbuhan biomassa sel

Berdasarkan hasil uji pertumbuhan 8 isolat BAL halofilik (EDI-14, DAN-6, DAN-7, DES-20, DES-21, DES-24, DES-26 dan DES-27) pada media produksi ekstrak sawi (data tidak ditunjukkan) dapat ditentukan waktu panen sel untuk dibuat starter kultur kering yaitu sekitar jam ke 15 karena awal fase pertumbuhan stasioner terjadi pada waktu tersebut. Sedangkan 4 isolat BAL halofilik (EDI-14, DAN-6, DAN-7 dan DES-26) yang ditumbuhkan pada media produksi biomassa PGY + 3 % NaCl dan PGY + 3 % NaCl dan + 17,7 % sukrosa fase pertumbuhan dicapai pada jam ke 18. Awal fase stasioner 8 isolat BAL tersebut ditunjukkan dengan pertambahan biomassa yang sedikit

(mendekati nol) atau tidak ada (nol). Menurut Mary *et al.* (1985) sel bakteri pada awal fase stasioner atau akhir fase logaritmik baik untuk dibuat starter kering karena pada fase pertumbuhan generatif tersebut sel relatif tahan terhadap perubahan lingkungan.

2. Viabilitas starter kering BAL

Hasil uji ketahanan kering terhadap 8 isolat BAL dalam starter kering dari media ekstrak sawi dapat dilihat pada Gambar 1.

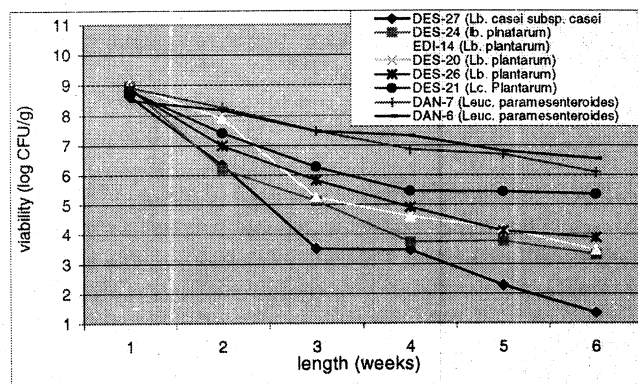


Fig 1. Viability of Lactic Acid Bacteria in dry starter produced on cabbage extract media during several weeks

Hasil pengamatan tiap 1 minggu terhadap viabilitas masing-masing isolat dalam starter kering yang disimpan dalam desikator dengan kelembaban relatif (RH) nol atau mendekati nol menunjukkan penurunan yang beragam. Empat isolat BAL yaitu DAN-6, DAN-7, DES-21 dan DES-26 menunjukkan penurunan viabilitas yang relatif kecil yaitu turun dari $3,6 \times 10^6$ sel/g menjadi $2,18 \times 10^5$ sel/g starter kering (6,07 %) dan dari $18,3 \times 10^7$ sel/g menjadi $1,22 \times 10^6$ sel/g starter kering (0,66 %) pada pengamatan minggu ke IV (hari ke 28) dibanding empat isolat lainnya yang viabilitasnya turun dari $9,7 \times 10^6$ sel/g menjadi $7,7 \times 10^3$ sel/g starter kering dan dari $2,2 \times 10^6$ sel/g menjadi $2,2 \times 10$ sel/g starter kering. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan kemampuan BAL mengakumulasi senyawa-senyawa osmoprotektan, menurut Kets, dkk. (1996) semakin banyak senyawa osmoprotektan yang dapat diakumulasi oleh suatu bakteri semakin tahan terhadap keadaan kering.

Hasil uji ketahanan kering terhadap 4 isolat BAL dalam starter kering dari media PGY + 3 % Na Cl dengan perlakuan penambahan gliserol 5% dapat dilihat pada Gambar 2.

Viabilitas sel bakteri asam laktat (BAL) setelah pengeringan beku pada perlakuan penambahan gliserol 5 % lebih besar yaitu : DAN-6, DES-26, DAN-7, dan EDI-14 berturut-turut sebesar 26,83 %, 36,37 %, 70 % dan 78,14 % dibanding tanpa penambahan gliserol yaitu : DAN-6, DES-26, DAN-7, dan EDI-14 berturut-turut sebesar 8,16 %, 9,3 %, 23,33 % dan 24,04 %. Hal ini disebabkan karena senyawa gliserol menggantikan posisi air yang terikat pada dinding sel sehingga terjadi interaksi

protein dinding sel dan senyawa tersebut melalui ikatan hidrogen dan esterik pada gugus hidroksinya, sehingga sel terlindungi saat dikeringbekukan (Valdez dkk., 1983). Akan tetapi viabilitas setelah pengeringan yang cukup besar tersebut nampaknya tidak diikuti saat starter kering disimpan dalam desikator selama beberapa minggu. Setelah disimpan 5 minggu viabilitas sel BAL dengan penambahan gliserol turun lebih banyak yaitu dari $1,26 \times 10^9$ /g menjadi $3,8 \times 10^3$ /g hingga dari $2,29 \times 10^9$ /g menjadi $4,6 \times 10$ /g starter kering, sedangkan viabilitas sel BAL yang tanpa penambahan gliserol hanya turun lebih sedikit yaitu dari $3,5 \times 10^8$ /g turun menjadi $2,02 \times 10^6$ hingga dari $6,9 \times 10^8$ /g turun menjadi $6,5 \times 10^5$ /g starter kering. Hal ini menunjukkan bahwa gliserol hanya dapat melindungi membran dan dinding dari perubahan fase kristal cair (*liquid crystal*) ke fase gel selama proses pengeringan dan tidak melindunginya saat terjadi proses sebaliknya yaitu selama dilakukan rehidrasi.

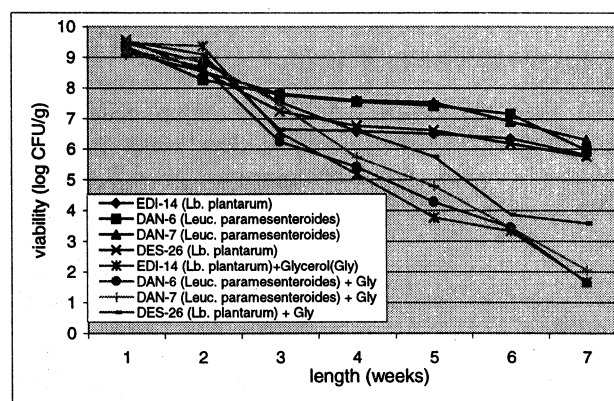


Fig 2. Viability of Lactic Acid Bacteria in dry starter produced on PGY + 3 % NaCl media and treated by adding glycerol during several weeks

Hasil uji ketahanan kering terhadap 4 isolat BAL dalam starter kering dari media PGY + 3 % Na Cl + 17.7 % sukrosa dengan perlakuan penambahan gliserol 5% dapat dilihat pada Gambar 3.

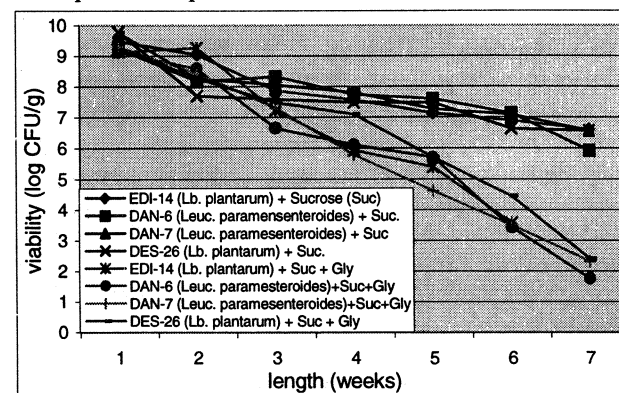


Fig 3. Viability of Lactic Acid Bacteria in dry starter treated by adding glycerol and sucrose during several weeks

Penambahan sukrosa 17,7 % dalam media produksi sel BAL lebih menjaga viabilitas isolat-isolat BAL dalam starter kering selama disimpan 5 minggu.

Penurunan viabilitas BAL dengan perlakuan penambahan sukrosa adalah yang terkecil dari $4,9 \times 10^7$ sel/g menjadi $3,7 \times 10^6$ sel/g starter kering dan yang terbesar dari $1,10 \times 10^9$ sel/g menjadi $4,1 \times 10^6$ sel/g starter kering. Sedangkan yang tanpa perlakuan penambahan sukrosa penurunan viabilitasnya lebih banyak yaitu yang terkecil dari $3,5 \times 10^8$ sel/g menjadi $2,02 \times 10^6$ sel/g starter kering dan yang terbesar dari $6,9 \times 10^8$ sel/g menjadi $6,5 \times 10^5$ sel/g starter kering. Penambahan gliserol pada starter kering terhadap isolat BAL yang diproduksi dengan media yang telah ditambah sukrosa nampaknya justru memperbesar penurunan viabilitasnya selama penyimpanan yaitu terkecil dari $1,89 \times 10^8$ sel/g menjadi $2,47 \times 10^2$ sel/g dan terbesar dari $3,9 \times 10^8$ sel/g menjadi $5,6 \times 10$ sel/g starter kering.

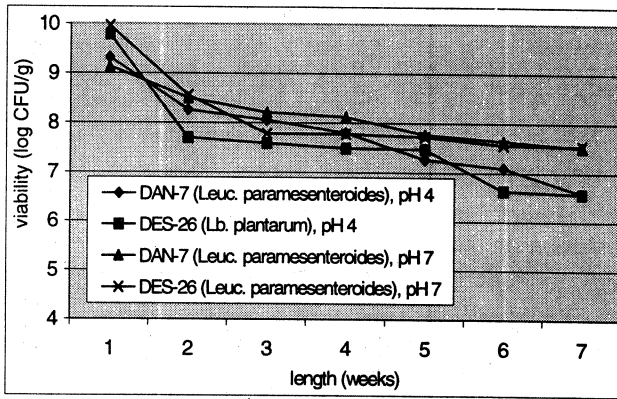


Fig 4. Viability of Lactic Acid Bacteria in dry starter treated by acidity and adding sucrose during several weeks

Tingginya viabilitas sel bakteri asam laktat (BAL) dalam starter kering yang diproduksi pada media yang diperkaya dengan sukrosa menunjukkan bahwa disakarida tersebut dapat melindungi sel selama pengeringan, penyimpanan kering dan selama rehidrasi. Sedangkan rendahnya viabilitas BAL dalam starter kering dengan kombinasi perlakuan penambahan

sukrosa dan gliserol menunjukkan bahwa efek perlindungan kedua senyawa tersebut terhadap sel BAL tidak saling berkomplemen. Menurut Valdez *et al.* (1983) gliserol lebih sesuai dikombinasi dengan susu tanpa lemak (skim) dalam melindungi sel BAL dari kondisi kering. Sedangkan sukrosa menurut Leslie *et al.* (1995) lebih sesuai dikombinasi dengan trehalosa dalam melindungi sel bakteri dari kondisi kering.

Setelah pengeringan beku viabilitas sel bakteri asam laktat (BAL) yang dinetralkan sedikit lebih besar yaitu $3,2 \times 10^8$ sel/g pada *Leuc. paramesenteroides* dan $3,6 \times 10^8$ sel/g pada *Lb. plantarum* dibanding yang tidak dinetralkan yaitu $1,82 \times 10^8$ sel/g dan $5,0 \times 10^7$ sel/g. Demikian juga selama 5 minggu penyimpanan kering viabilitas sel BAL yang dinetralkan sedikit lebih besar yaitu $3,3 \times 10^7$ sel/g pada *Leuc. paramesenteroides* dan $4,8 \times 10^7$ sel/g pada *Lb. plantarum* dibanding yang tidak dinetralkan yaitu $3,8 \times 10^6$ sel/g dan $3,7 \times 10^6$ sel/g. Perbedaan viabilitas sel BAL starter kering yang relatif kecil antara kedua perlakuan pH tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat menyesuaikan dengan kondisi pH rendah (Ray, 1996) meskipun demikian lebih menyukai kondisi pH mendekati netral atau netral (Frazier, 1967). BAL isolat DAN-7 dan DES-26 dalam starter kering dengan perlakuan penambahan sukrosa dan pH netral jika disimpan hingga 12 minggu viabilitasnya masih besar yaitu log 6,16 dan 6,87 CFU/g (interpolasi dengan regresi). Tingginya viabilitas BAL starter kering yang disimpan dalam waktu yang cukup lama tersebut menunjukkan adanya prospek untuk diproduksi dan digunakan dalam proses pengolahan ikan fermentatif.

3. Penghambatan BAL Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk

Secara umum besarnya aktivitas penghambatan BAL dari starter kering terhadap pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk relatif lebih kecil dibanding BAL dari kultur stok. Besarnya aktivitas penghambatan tersebut dapat dilihat pada tabel 1. berikut ini.

Tabel 1. Inhibition activity of Lactic Acid Bacteria from different media to some pathogenic and spoilage bacteria

Species/Isolate	Width of clear zone (mm)											
	Salmonella choleraesuis JCM 3915		Shigella spp.		Escherichia coli FNCC 0091		Staphylococcus aureus FNCC 0047		Vibrio parahaemolyticus JMC 2147		Morganella morganii NCTC 2815	
	KS	SK	KS	SK	KS	SK	KS	SK	KS	SK	KS	SK
<i>L. Plantarum</i> (EDI-14)	2,5	1,5	3,0	2,5	2,5	1,5	4,0	3,5	3,5	2,5	3,5	2,5
<i>L. Paramesenteroides</i> (DAN-4)	3,5	3,0	2,5	2,0	4,0	3,5	3,5	3,5	3,0	2,5	2,5	2,5
<i>L. Paramesenteroides</i> (DAN-7)	3,0	2,5	2,0	2,0	2,5	2,0	3,5	3,5	3,0	2,5	3,0	2,0
<i>L. Plantarum</i> (DES-26)	4,5	2,5	3,5	3,0	4,5	2,5	4,0	4,0	4,0	3,0	4,0	2,5

KS : Lactic Acid Bacteria from PGY Broth stock culture

SK : Lactic Acid Bacteria from dry starter culture

Besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Lb. plantarum* (EDI-14) dari kultur stok terhadap *Salmonella choleraesius* JMC 3919, *Shigella*, *Eschericia coli* FNCC 0091, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147 dan *Morganella morganii* NCTC 2815 adalah berturut-turut 2,5 mm, 3,0 mm, 2,5 mm, 4,0 mm, 3,5 mm dan 3,5 mm. Sedangkan besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Lb. plantarum* (EDI-14) dari starter kering adalah berturut-turut 1,5 mm, 2,5 mm, 1,5 mm, 3,5 mm, 2,5 mm dan 2,5 mm.

Besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Leuc. paramesenteroides* (DAN-6) dari kultur stok terhadap *Salmonella choleraesius* JMC 3919, *Shigella*, *Eschericia coli* FNCC 0091, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147 dan *Morganella morganii* NCTC 2815 adalah berturut-turut 3,5 mm, 2,5 mm, 4,0 mm, 3,5 mm, 3,0 mm dan 2,5 mm. Sedangkan besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Leuc. paramesenteroides* (DAN-6) dari starter kering adalah berturut-turut 3,0 mm, 2,0 mm, 3,5 mm, 3,5 mm, 2,5 mm dan 2,5 mm.

Besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Leuc. paramesenteroides* (DAN-7) dari kultur stok terhadap *Salmonella choleraesius* JMC 3919, *Shigella*, *Eschericia coli* FNCC 0091, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147 dan *Morganella morganii* NCTC 2815 adalah berturut-turut 3,0 mm, 2,0 mm, 2,5 mm, 3,5 mm, 3,0 mm dan 3,0 mm. Sedangkan besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Leuc. paramesenteroides* (DAN-7) dari starter kering adalah berturut-turut 2,5 mm, 2,0 mm, 2,0 mm, 3,5 mm, 2,5 mm dan 2,0 mm.

Besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Lb. plantarum* (DES-26) dari kultur stok terhadap *Salmonella choleraesius* JMC 3919, *Shigella*, *Eschericia coli* FNCC 0091, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147 dan *Morganella morganii* NCTC 2815 adalah berturut-turut 4,5 mm, 3,5 mm, 4,5 mm, 4,0 mm, 4,0 mm dan 4,0 mm. Sedangkan besarnya aktivitas penghambatan isolat BAL *Lb. plantarum* (EDI-14) dari starter kering adalah berturut-turut 2,5 mm, 3,0 mm, 2,5 mm, 4,0 mm, 3,0 mm dan 2,5 mm.

Dari hasil uji penghambatan isolat-isolat BAL yang dibuat starter kering menunjukkan bahwa perlakuan pengeringan dan penyimpanan kering tidak menyebabkan hilangnya kemampuan penghambatan terhadap bakteri patogen dan pembusuk. Adanya sedikit penurunan aktivitas penghambatan isolat BAL tertentu terhadap suatu bakteri patogen atau pembusuk merupakan akibat dari pembuatan starter kering yang menyebabkan turunnya kecepatan tumbuh, sehingga produksi senyawa-senyawa antimikrobiana relatif lebih sedikit. Menurut Valdez dkk. (1985) perlakuan pengeringan terhadap BAL dapat menyebabkan luka atau stress pada sel, sehingga pada saat ditumbuhkan kembali pada media broth atau agar pertumbuhannya lambat.

KESIMPULAN

Dalam upaya untuk mendapatkan bakteri-bakteri asam laktat yang potensial untuk dibuat kultur starter kering bagi pengolahan produk-produk perikanan fermentatif, maka dari penelitian ini disimpulkan sebagai berikut :

1. 30 isolat bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari peda, terasi, ikan asin dan bekasam, 8 diantaranya tergolong bakteri halofilik moderat yaitu *Lb. plantarum* (EDI-14, DES-20, DES-21, DES-24 dan DES-26), *Leuc. paramesenteroides* (DAN-6 dan DAN-7) dan *Lb. casei* subsp. *casei* (DES-27).
2. Penambahan gliserol 5 % dalam starter dapat menjaga viabilitas bakteri asam laktat (BAL) saat pengeringan beku (*freeze drying*), tetapi tidak dapat mempertahankan viabilitas BAL dalam starter kering selama penyimpanan.
3. Penambahan sukrosa 17,7 % dalam media produksi dan penetralan pH starter kering sebelum pengeringan dapat menjaga viabilitas sel bakteri asam laktat (BAL) selama penyimpanan. Viabilitas isolat *Leuc. paramesenteroides* (DAN-7) dan *Lb. plantarum* (DES-26) yang disimpan selama 5 minggu adalah 10,4 % (turun dari 33×10^7 sel/g menjadi $3,3 \times 10^7$ sel/g starter kering) dan 9,77% (turun dari 36×10^7 sel/g menjadi $3,5 \times 10^7$ sel/g starter kering).
4. Perlakuan pengeringan beku dan penyimpanan kering tidak berpengaruh nyata terhadap kemampuan isolat-isolat BAL menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk seperti *Salmonella choleraesius* JCM 3919, *Shigella*, *Escherichia coli* FNCC 0091, *Vibrio parahaemolyticus* JCM 2147, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan *Morganella morganii* NCTC 2847.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, A.D., 1976. Microbial water stress. *Bacteriol rev.* 53(1): 121-147
- Caesar, A.J. and J. Burr, 1991. Effect of Conditioning, Betaine and Sucrose on Survival of Rhizobacteria in Powder Formulations. *Appl. Envi. Microbiol.* Vol. 57(1): 168-172
- Cha, Y.J. and K.R. Cadwallader, 1995. Volatile Component in Slata Fermented Fish and Shrimp Pastes. *Journal Food Science.* 60 : 19-24
- Frazier, W.C., 1967. *Food Microbiology.* 2nd Ed. McGraw-Hill Book Company, New York. Hal : 6
- Hutkins, R.W., W.L. Ellefson and E.R. Kashket, 1987. Betaine Transport Imparts Osmotolerance on a Strain of *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Envi. Microbiol.* 53(10): 2275-2280
- Kanoni, S., M. Astuti dan S. Naruki, 1988. Evaluasi kandungan Histamin Ikan Peda yang Beredar di Pasar Yogyakarta dan Pengaruhnya Terhadap Histologi Kelenjar Hati Tikus. PAU Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta.

- Kets, E.P., P.J.M. Teunissen and J.A.M. Bont, 1996. Effect of Compatible Solutes on Survival of Lactic Acid Bacteria Subjected to Drying. *Appl. Envi. Microbiol.*, Vol. 62(1): 259 – 261
- Leslie, S.B., E. Israeli, B. Lighthart, J.H. Crowe and L.M. Crowe, 1995. Threhalose and Sucrose Protect Both Membranes and Proteins in Intact Bacteria During Drying. *Appl. Envi. Microbiol.*, Vol. 61(10): 3592 – 3597
- Madigan, M.T., J.M. Matiko and J. Parker, 1997. *Broch Biologi of Mikroorganism*, Prentice Hall. International Inc. New Jersey. hal : 57 -60
- Mary, P., D. Ochin and R. Tailliez, 1985. Rates of Drying and Survival of *Rhizobium meliloti* Strains During Storage at Different Relative Humidities. *Appl. Envi. Microbiol.* 50(2): 207 -211
- McClure, N.C., A.J. Weightman and J.C. Fry, 1989. Survival of *Pseudomonas putida* UWC1 Containing Cloned Catabolic Genes in Model Activated-Sludge Unit. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 55(10):2627-2634
- Morzel, M., N.G. Fransen and E.K. Arendt, 1997. Define Starter Cultures used for Fermentation of Salmon Fillets. *J. Food Sci.* Vol. 62(6): 1214-1218
- Murtini, J.T., 1991. Bekasam ikan mas. Dalam Suparno, dkk. (eds) : *Kumpulan Hasil-Hasil Penelitian Pasca Panen Perikanan*. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Perikanan, Balitbang-Deptan. hal : 135 - 136
- Purwoko, T.B. , 1985. Pengaruh Penambahan Sukrosa Terhadap Kualitas Produk Akhir Pada Pengolahan Ikan Peda, *Skripsi S-1*, Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. hal : 17 - 18
- Rahmiati, R. , 1988. Pengaruh Kesegaran Bahan Dasar dan Lama Penggaraman Terhadap Mutu Ikan Asin. *Skripsi S-1* Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. hal : 20
- Ray, B., 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press. Boca Reaton, Florida.
- Rosaria, D., 1999. Bakteri Asam Laktat Pada Makanan Hasil Fermentasi di Kalimantan Selatan. *Skripsi S-1*, Fakultas Teknologi Pertanian. UGM, Yogyakarta. p. 61
- Valdes, G.F., G.S. Giori, A.A.P. Ruiz Holgado and G. Oliver, 1983. Protective Effect of Adonitol on Lactic Acid Bacteria Subjected to Freeze- Drying. *Appl. Envi. Microbiol.*, Vol. 45 (1): 302 – 305
- Valdes, G.F., G.S. Giori, A.A.P. Ruiz Holgado and G. Oliver, 1985. Effect of the Rehydration Medium on the Recovery of Freeze Dried Lactic Acid Bacteria. *Appl. Envi. Microbiol.* Vol. 50 (3): 1339 – 1341