

**AKTIVITAS ANTAGONISME BAKTERIASAM LAKTAT HASIL ISOLASI
FERMENTASI PETIS DAGING SAPI TRADISIONAL**
*[Antagonism Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated
from Traditional Fermented Meat Petis]*

Y.B. Pramono¹, E. S. Rahayu², Suparmo², T. Utami²

¹*Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro,
Kampus drh. Soejono Koesoemowardoj, Tembalang, Semarang 50275*

²*Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada,
Jl. Flora, Kompleks Bulaksumur, Yogyakarta*

Received November 12, 2008; Accepted February 25, 2009

ABSTRACT

The research of antagonism activity of lactic acid bacteria to pathogen bacteria, spoilage bacteria and histamin producer bacteria was done. The goal of the research was to know the influence of lactic acid bacteria on antagonistic activity to pathogen bacteria, spoilage bacteria, and histamin-producer bacteria. The research used *exploration experimental method* with 4 replications. This research used lactic acid bacteria which was isolated from traditional fermented meat petis. The code of lactic acid bacteria were *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA2 sp., *Pediococcus* YDA3 sp., *Pediococcus* YDA4 sp., *Pediococcus* YDA5 sp., *Pediococcus* YDA6 sp., *Pediococcus* YDA7 sp., *Pediococcus* YDA8 sp., *Pediococcus* YDA9 sp., *Pediococcus* YDA10 sp., and *Pediococcus* YDA11 sp. The spoilage bacteria was *Bacillus substilis* FNCC 0061. The pathogen bacteria were *Salmonella typhimurium* FNCC 0134, *Escherchia coli* FNCC 0047, *Staphylococcus aureus* FNCC 0097, and *Vibrio parahaemolyticus* FNCC 0166. While the codes of the histamin-producer bacteria were P1, P2, and P3. The measurement of antagonistic activity of lactic acid bacteria used well diffusion modification method. This was represent by clear zone diametres as capability of inhibitory. The result of research was that 5 lactic acid bacteria had antagonism activity to pathogen bacteria, spoilage bacteria and histamin-producer bacteria. They were *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA3 sp., *Pediococcus* YDA4 sp., *Pediococcus* YDA10 sp., and *Pediococcus* YDA11 sp.

Keywords : Pediococcus, Fermented Meat, Antagonism Activity

PENDAHULUAN

Pembuatan petis daging fermentasi pada umumnya mengandalkan fermentasi spontan dengan mikrobiota alami yang ada. Kelemahan cara tersebut adalah kualitas dan stabilitas produk tidak terjaga, demikian juga dengan keamanan produk belum terjamin

Tahapan pemberian garam sangat penting dalam proses fermentasi spontan. Garam berfungsi untuk menarik air karena sifatnya yang higroskopis, baik dalam jaringan daging maupun dalam sel mikrobia, sehingga dapat menseleksi secara alami terhadap mikrobia yang tidak dikehendaki. Diharapkan hanya mikrobia yang tahan garam dan bersifat halofil (termasuk beberapa genus bakteri asam laktat) saja

yang berperan dalam fermentasi. Peran bakteri asam laktat ini penting terutama dalam menekan pertumbuhan bakteri yang tidak disukai, yaitu bakteri penyebab kebusukan dan bakteri patogen. Namun demikian peranan bakteri asam laktat dalam fermentasi petis daging hingga saat ini belum diungkap dengan tuntas.

Selain itu bakteri asam laktat juga dapat menurunkan aktivitas deaminasi dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri penghasil komponen bioamin. Komponen bioamin ini dapat menimbulkan alergi bagi yang mengkonsumsinya serta cukup berbahaya untuk orang yang mempunyai potensi pertumbuhan sel kanker dalam tubuhnya karena dapat mempercepat stimulasi pertumbuhannya

(Kalae, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi daging adalah faktor endogenus dan eksogenus. Faktor endogenus yaitu faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yang berasal dari dalam bahan, sedangkan faktor eksogen merupakan faktor yang mempengaruhi fermentasi yang berasal dari luar bahan dan/atau lingkungan. Contoh faktor endogen adalah dari bahan dasar yaitu daging, bahan curing, bahan aditif, dan mikrobia. Bahan dasar meliputi jenis daging dan tipe daging, sifat fisik berupa ukuran, pH, dan *A_w*, dan sifat biokimiawi daging. Bahan curing yang digunakan, jenis dan jumlahnya juga mempengaruhi misalnya NaCl/KCl akan berbeda dengan nirat/nitrit. Bahan aditif yang ditambahkan misal gula/karbohidrat atau bumbu-bumbuakan mempengaruhi proses fermentasi yang berlangsung. Untuk faktor mikrobia ada 2 hal yang mempengaruhi yaitu pertama mikrobiota alami yang ada dalam bahan, kemampuan kompetisi, ada/tidaknya patogen, aktivitas biokimiawi (contohnya membentuk flavor dan aroma spesifik). Kedua adalah kultur starter yang digunakan, meliputi konsentrasi, tipe fermentasi, interaksi biokimia, aktivitas biokimiawi (contohnya laju dan jumlah produksi asam laktat), dan produksi bakteriosin. Faktor eksogenus yaitu suhu, kelembaban (RH), pengeringan, pergerakan udara, kandungan oksigen, dan durasi fermentasi (McLoughlin dan Champagne, 1994).

Pada fermentasi petis daging sapi tradisional yang bersifat *spreadable*, bakteri yang sering mengkontaminasi adalah *Salmonella typhimurium*, *Escherchia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Untuk bakteri asam laktat yang sering digunakan sebagai kultur starter adalah *Pediococcus*, *Lactobacillus* dan *Lactococcus* (Varnam dan Sutherland, 1995; Hugost dan Monfort, 1997; Hammes *et al.*, 2003; Chevallier *et al.*, 2006 dan Pramono *et al.*, 2007).

Dalam fermentasi daging secara spontan, bakteri asam laktat secara alamiah ada dalam bahan daging atau dari lingkungan saat proses berlangsung. Beberapa bakteri asam laktat yang merupakan mikrobiota alami dalam daging yaitu *Pediococcus*, *Lactobacillus*, dan *Leuconostoc* (Sorensen *et al.*, 2002; dan Ray, 1996). Peranan bakteri asam laktat dalam fermentasi spontan merupakan gabungan antara produk asam laktat yang akan menyebabkan

pH rendah yang terjadi (5,9 - 4,6) serta produk metabolik lain, misalnya asam asetat, hidrogen peroksida, asetaldehide, dan bakteriosin yang akan menghambat bakteri patogen dan pembusuk (Lucke, 2000).

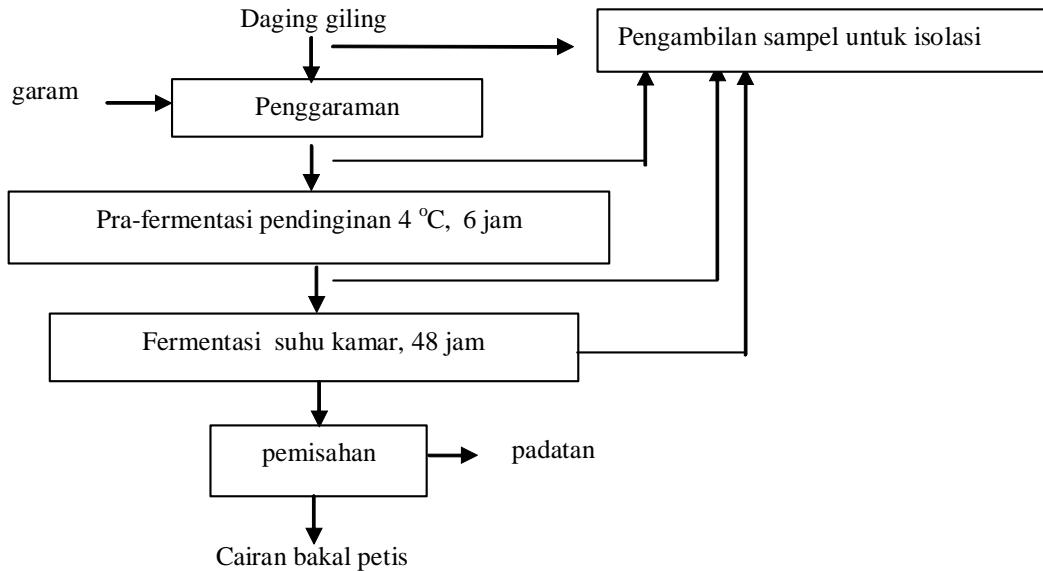
Secara umum asam yang dihasilkan selama proses fermentasi bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain, termasuk pembusuk dan patogen. Beberapa bakteri asam laktat ternyata juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin dan hidrogen peroksida yang juga memiliki daya antagonisme terhadap bakteri lain (Hammes *et al.*, 2003). Hasil penelitian Alvarado *et al.* (2006) menunjukkan bahwa potensi pemanfaatan bakteri asam laktat untuk memperlama masa simpan makanan dengan produk metaboliknya seperti asam organik, karbon dioksida, ethanol, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Hal ini dibuktikan dengan penggunaan bakteri asam laktat yang berasal dari produk hewani yaitu *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilacticii* dapat menghambat *Staphylococcus aureus*, *Escherchi coli*, *Salmonella*, dan *Vibrio parahaemolyticus* dengan diameter penghambatan antara 0,5-8 mm dengan cara mengukur zona jernih yang terbentuk pada metoda "well diffusion". Demikian juga mampu menurunkan *Staphylococcus aureus* hingga 2 *log cycle*, sedangkan *E. coli* mampu diturunkan 1-5 *log cycle* dengan cara menghitung koloni yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol.

Tujuan penelitian ini adalah mengungkap aktivitas antagonisme bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen, bakteri pembusuk, dan bakteri penghasil histamin untuk menghasilkan petis daging fermentasi dengan mutu yang lebih baik. Mutu yang baik dikaitkan dengan peningkatan kualitas, menjaga stabilitas serta terjaminnya keamanan produk.

MATERI DAN METODE

Proses pembuatan petis daging fermentasi dan pengambilan sampel untuk isolasi bakteri asam laktat ditunjukkan dalam Gambar 1.

Isolat bakteri asam laktat yang digunakan ada 11 isolat yaitu *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA2 sp., *Pediococcus* YDA3 sp., *Pediococcus* YDA4 sp., *Pediococcus* YDA5 sp., *Pediococcus* YDA6 sp., *Pediococcus* YDA7 sp., *Pediococcus*



Gambar 1. Proses Pembuatan Cairan Bakal Petis Fermentasi

YDA8 sp., *Pediococcus* YDA9 sp., *Pediococcus* YDA10 sp., dan *Pediococcus* YDA11 sp. Isolat-isolat ini merupakan hasil penelitian sebelumnya yang sudah dipublikasi (Pramono *et al.*, 2008) diperoleh dari isolasi mikrobiota alami pada fermentasi petis daging secara spontan.

Untuk menguji aktivitas antagonisme bakteri asam laktat pada penelitian ini dilakukan dengan cara modifikasi metode *well diffusion* menurut Bromberg *et al.* (2005) dan Yoshinaga dan Frank (1982). Adapun bakteri indikator yang digunakan untuk bakteri pembusuk adalah *Bacillus substilis* FNCC 0061, hal ini dilakukan karena menurut Ray (1996) dengan proses pra-fermentasi pada suhu dingin dan penambahan garam, *Bacillus* mampu bertahan karena menghasilkan spora. Bakteri patogen yang digunakan ada 4 bakteri indikator yaitu (1) *Salmonella typhimurium* FNCC 0134 karena *Salmonella* merupakan indikator patogen yang umum terdapat didalam daging, (2) *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, merupakan indikator higienitas yang bersumber dari manusia (permukaan kulit), (3) *Escherchia coli* FNCC 0091 yang digunakan sebagai indikator sanitasi, dan (4) *Vibrio parahaemolyticus* FNCC 0166 yang biasa terdapat dalam makanan bergaram tinggi. Adapun cara yang dilakukan kultur bakteri asam laktat telah diperoleh berumur 24 jam ditetaskan dalam media NA (*nutrient agar*) yang

telah diperkaya glukosa pada sumuran di cawan petri yang sebelumnya telah dituangi dengan media yang telah diinokulasi dengan bakteri patogen, pembusuk, dan pembentuk histamin. Kemampuan penghambatan diukur dengan diameter zona jernih disekitar sumuran Langkah awal untuk mengetahui kemampuan antagonisme bakteri asam laktat terhadap bakteri penghasil histamin adalah mengisolasi bakteri penghasil histamin dengan media Niven-termodifikasi yang akan memberikan warna merah disekitar koloni karena kenaikan pH yang terjadi. Kenaikan pH ini terjadi akibat aktivitas metabolik dari mikrobia tersebut karena degradasi protein. Dalam penelitian ini diperoleh 3 isolat dominan bakteri penghasil histamin yang diberi kode P1, P2, dan P3.

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi awal (*exploration experimental method*) dengan 4 ulangan dan 2 satuan percobaan. Oleh karena penelitian ini merupakan eksplorasi awal untuk itu tidak dilakukan analisa sidik ragam. Pendekatan pengukuran untuk meningkatkan kualitas dan menjaga stabilitas dilihat dari kemampuan antagonistik bakteri asam laktat hasil isolasi terhadap bakteri pembusuk, sedangkan pendekatan untuk meningkatkan keamanan produk adalah dengan kemampuan bakteri asam laktat dalam menekan bakteri patogen dan bakteri penghasil histamin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian kemampuan isolat-isolat bakteri asam laktat dalam menekan bakteri pembusuk, patogen, dan penghasil histamin dengan metode *well diffusion* yaitu dengan mengukur diameter penghambatan dalam milimeter disajikan dalam Tabel 1.

ini. Pada bakteri patogen *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 terlihat ada 9 isolat yang mampu menghambat, serta hanya ada 2 isolat yang tidak mampu menghambat yaitu *Pediococcus* YDA5 sp. dan *Pediococcus* YDA9 sp. Bakteri patogen *Eschericia coli* FNCC 0091 ada 9 isolat yang mampu menghambat yaitu *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA2 sp., *Pediococcus* YDA3 sp.,

Tabel 1. Kemampuan Isolat BAL Menekan Bakteri Pembusuk, Patogen, dan Penghasil Histamin

Kode isolat	Diameter penghambatan (mm) thd bakteri							
	Pembusuk		Patogen			Penghasil histamin		
	<i>Bs</i>	<i>St</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Vp</i>	P1	P2	P3
<i>Pediococcus</i> YDA1 sp.	9	12	10	14	0	8	11	8
<i>Pediococcus</i> YDA2 sp.	0	0	12	12	0	10	0	0
<i>Pediococcus</i> YDA3 sp.	8	0	12	11	0	7	12	7
<i>Pediococcus</i> YDA4 sp.	9	0	12	9	0	9	7	10
<i>Pediococcus</i> YDA5 sp.	0	0	0	0	0	9	0	0
<i>Pediococcus</i> YDA6 sp.	12	0	11	0	0	12	0	0
<i>Pediococcus</i> YDA7 sp.	13	0	10	11	0	8	8	0
<i>Pediococcus</i> YDA8 sp.	0	11	13	10	0	10	9	0
<i>Pediococcus</i> YDA9 sp.	0	0	0	13	0	7	0	0
<i>Pediococcus</i> YDA10 sp.	10	0	10	14	0	8	12	7
<i>Pediococcus</i> YDA11 sp.	0	0	9	15	0	8	10	8
kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0

Ket. : *Bs* : *Bacillus subtilis* FNCC 0061

St : *Salmonella typhymurium* FNCC 0134

Sa : *Staphylococcus aureus* FNCC 0047

Ec : *Eschericia coli* FNCC 0091

Vp : *Vibrio parahemolyticus* FNCC 0166

Terlihat pada Tabel 1 bahwa tidak semua isolat bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* FNCC 0061. Isolat yang mampu menekan hanya isolat *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA3 sp., *Pediococcus* YDA4 sp., *Pediococcus* YDA6 sp., *Pediococcus* YDA7 sp., dan *Pediococcus* YDA10 sp. Bakteri *Vibrio parahemolyticus* FNCC 0166 semua isolat bakteri asam laktat tidak mampu menghambat, hal ini diduga karena produk metabolik bakteri asam laktat berupa asam laktat, diasetil, hidrogen peroksida (Van den berg, 1993) etanol dan asam organik lainnya (Lucke, 2000) tidak cukup jumlahnya untuk menjadi sarana yang mampu mematikan terhadap mikrobia tersebut. Sedangkan pada bakteri *Salmonella typhymurium* FNCC 0134 hanya ada dua isolat yang mampu menghambat yaitu *Pediococcus* YDA1 sp. dan *Pediococcus* YDA8 sp., hal ini terjadi diduga kedua bakteri mempunyai produk bakteriosin yang mampu menekan bakteri patogen

Pediococcus YDA4 sp., *Pediococcus* YDA7 sp., *Pediococcus* YDA8 sp., *Pediococcus* YDA9 sp., *Pediococcus* YDA10 sp., dan *Pediococcus* YDA11 sp., hanya ada 2 isolat yang tidak mampu menghambat yaitu *Pediococcus* YDA5 sp. dan *Pediococcus* YDA6 sp. Kemampuan penghambatan ini diduga merupakan gabungan antara produk asam laktat yang terbentuk dan produk metabolik lainnya. Untuk bakteri penghasil histamin hampir semua isolat bakteri asam laktat secara merata mempunyai kemampuan penghambatan. Penghambatan ini sangat membantu dalam menekan terbentuknya histamin karena dapat menekan bakteri yang memproduksinya. Diduga juga kemampuan penghambatan ini merupakan gabungan antara bakteriosin yang diproduksi dan juga produk metabolik lainnya seperti hidrogen peroksida yang mampu melindungi dari keracunan oksigen tetapi dapat merusak komponen sel yang penting seperti membran sel dan DNA bakteri patogen (Daeschel *et al.*, 1989).

Kemampuan isolat-isolat *Pediococcus* tersebut dalam menekan pertumbuhan bakteri pembusuk, patogen dan penghasil histamin diduga berasal dari asam laktat yang terbentuk serta produk metabolit lainnya. Produk metabolit itu misalnya hidrogen peroksida, diasetil, bakteriosin dan lain sebagainya. Asam laktat akan berdifusi ke dalam sel mikrobia, kemudian didalam sel akan terdisosiasi yang akan mengganggu sistem transpot nutrisi. Disosiasi dalam sel ini akan membentuk proton dan anion, sehingga keberadaan proton tersebut mengganggu keseimbangan pengangkutan nutrisi. Oleh sebab itu, bakteri akan berusaha mengeluarkan proton tersebut dari dalam sel. Proses pengeluaran proton ini membutuhkan energi yang tinggi akibatnya bakteri akan mati karena kehabisan energi (Netcher, 2001). Untuk hidrogen peroksida yang dihasilkan bakteri asam laktat membentuk radikal hidroksi reaktif serta mengoksidasi sel sehingga protein dari struktur sel bakteri rusak yang akan mengakibatkan kematian bakteri pembusuk, patogen dan penghasil histamin (Daeschel *et al.*, 1989).

Disamping itu diduga isolat-isolat *Pediococcus* tersebut juga menghasilkan bakteriosin yang mempunyai kemampuan bakterisidal, misal reuterin, pediosin atau yang lain (Lucke, 2000). Hal inilah yang diduga mampu untuk menekan bakteri pembusuk, patogen, dan penghasil histamin yang merupakan aksi gabungan antara bakteriosin yang dihasilkan dan produk metabolit lainnya.

KESIMPULAN

Bakteri asam laktat hasil isolasi dari fermentasi petis daging mempunyai kemampuan aktivitas antagonisme, terhadap bakteri pembusuk, patogen, dan penghasil histamin, hal ini ditunjukkan dari diameter penghambatan. Lima isolat *Pediococcus* yang mempunyai kemampuan aktivitas antagonisme terbaik adalah *Pediococcus* YDA1 sp., *Pediococcus* YDA10 sp., *Pediococcus* YDA3 sp., *Pediococcus* YDA4sp., dan *Pediococcus* YDA11 sp.

Kemampuan aktivitas penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen, pembusuk dan penghasil histamin ini berpotensi untuk digunakan memperpanjang masa simpan daging segar.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarado, C., G.B.E. Almendarez, S.E. Martin and C. Regalado. 2006. Food-Associated Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Potential from Traditional Mexican Foods. *Mic. Alam* 48(3-4) : 260-268. Mexico.
- Chevallier, I. S. Ammor, A. Laguet, S. Labayle, V. Castanet, E. Dufour and R. Talon. 2006. Microbial Ecology of Small-scale Facility Producing Traditional Dry Sausage. *Food Cont.* 17 : 446-453.
- Daeschel, M.A. 1989. Characterization of Bacteriocin from *Lactobacillus plantarum*. Presented at 86-th Annual Mtg. Am.Sc. for Microbiology. Wshington. D.C. March (Abstrac p.14).
- Hammes, W., D. Halter and M.G. Ganze. 2003. Fermented Meat. Dalam *Handbook of Fermented Functional Foods*. Ed. Farnword. CRC Press. Boca, London, New York, Washington.
- Hugost, M. and J.M. Monfort. 1997. Bacterial Starter Culture for Meat Fermentation. *Food Chem.* 59(4) : 547-554.
- Kalae, P. 2006. Biologically Active Polyamines in Beef, Pork, and Meat Product : A Review. *Meat Science* 75 : 1-11.
- Lucke, F.K. 2000. Utilization of Microbes to Process and Preserve Meat. *Meat Science* 56 : 105-115
- McLoughlin, J.A. and C.P. Champagne. 1994. Immobilized Cells in Meat Fermentation. *CRC in Biotech.* 14 (2) 179-192.
- Netcher, E.W. 2001. *Microbiologi a Human Perspective*. 3rd ed. Mc. Graw Hill. New York.
- Pramono, Y.B., E.S. Rahayu, Suparmo, dan T. Utami. 2007. Perubahan Mikrobiologis, Fisik, dan Kimiawi Cairan Bakal Petis Daging selama Fermentasi Kering Spontan. *J. Pengembangan Peternakan Tropis* 32 (4) : 213-221
- Pramono, Y.B., E.S. Rahayu, Suparmo dan T. Utami, 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Fermentasi Petis Daging Tradisional. *J. Pengembangan Peternakan Tropis* 33 (4):319-323.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press Inc.
- Sorensen, O., J.V. Dankersgoed, M.C. McFall, K.

- Maninnen, G. Gensler, and G. Ollis. 2002. *Salmonella spp.* Shedding by Alberta Beef Cattle and the Detection of *Salmonella spp.* In Ground Beef. J.of Food. Protect. 65(2):484-491.
- Van denbergh . 1993. Lactic Acid Bacteria, Their Metabolic Product and Interference with Microbial Growth. FEMS. Mic. Rev. 12: 221-238.
- Varnam, A.H. and Sutherland, J.P. 1995. Meat and Meat Products. Chapman & Hall. London.
- Yoshinaga, D.H., and H.A. Frank. 1982. Histamin-Producing Bacteria in Decomposing Skipjack Tuna. Appl. & Env. Mic Journ. 44 (2):447-452.