

Isolasi *Lactobacillus sp* dari susu segar kemasan dan uji antimikroba terhadap bakteri patogen *Salmonella sp* dan *Streptococcus mutan*

Adhayani Lubis*, Oliviti Natali, Ade Arhamni, Masyitah, Ariyanto, Hans Hotma Haposan Marpaung, Linda Panjaitan

Fakultas Kedokteran Universitas Prima Indonesia

*Korespondensi: adhayaniadhayani@gmail.com

DOI: 10.34012/jpms.v3i1.1763

© 2021 JPMS. All rights reserved

Abstrak

Nilai gizi yang tinggi pada susu merupakan media yang baik untuk pertumbuhan berbagai macam mikroorganisme, baik yang menguntungkan maupun yang dapat membahayakan manusia. Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan *Lactobacillus sp* yang diisolasi dari susu segar terhadap bakteri patogen Gram (+) dan Gram (-) yaitu *Salmonella sp*, *Streptococcus mutan* secara in vitro. Hasil penelitian menunjukkan total populasi BAL pada susu segar kemasan adalah 200×10^8 CFU/g. Pada pewarnaan Gram menunjukkan hasil pewarnaan Gram yang positif, sedangkan pada uji katalase menunjukkan reaksi yang negatif dan uji aktivitas antimikroba yang menggunakan metode difusica kram *MRS broth*. Susu segar kemasan mampu menghambat *Salmonella sp* dengan zona hambat tertinggi adalah 11,925 mm sedangkan pada *Streptococcus mutans* mampu menghambat dengan zona tertinggi yaitu 13,45 mm.

Kata kunci: susu, *Lactobacillus sp*, probiotik, *Salmonella sp*, *Streptococcus mutans*

Abstract

High nutritional value in milk is a good medium for the growth of various kinds of microorganisms, both beneficial and harmful to humans. This study analyzed the ability of *Lactobacillus sp* isolated from fresh milk against Gram (+) and Gram (-) pathogenic bacteria, namely *Salmonella sp.*, *Streptococcus mutans* in vitro. The results showed that the total population of LAB in packaged fresh milk was 200×10^8 CFU/g. Gram staining showed a positive Gram stain, while the catalase test showed a negative reaction and the antimicrobial activity test used the difusica krama *MRS broth* method. Packaged fresh milk was able to inhibit *Salmonella sp* with the highest zone of inhibition was 11.925 mm while *Streptococcus mutans* was able to inhibit it with the highest zone of 13.45 mm.

Keywords: milk, *Lactobacillus sp*, probiotics, *Salmonella sp*, *Streptococcus mutans*

Pendahuluan

Susu merupakan bahan makanan yang diyakini mempunyai gizi yang sempurna dan lengkap. Di dalamnya terkandung zat-zat yang diperlukan untuk tubuh dalam perbandingan yang seimbang. Dengan lengkapnya kandungan gizi yang ada, maka susu dapat dipakai sebagai penyempurna makanan yang ada. Tetapi dengan nilai gizi yang tinggi tersebut susu merupakan media yang baik untuk pertumbuhan berbagai macam mikroorganisme, baik mikroorganisme yang menguntungkan maupun mikroorganisme yang dapat membahayakan manusia.¹ Susu sapi merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat – zat makanan yang lengkap dan seimbang, seperti protein, karbohidrat, lemak, kalsium, fosfor dan

zat besi serta vitamin A, B1 dan C. Susu sapi segar merupakan salah satu bahan pangan fungsional mengandung komponen aktif yang mempunyai fungsi fisiologis dan untuk pencegahan penyakit (osteoporosis, obesitas, hipertensi dan kanker), meningkatkan sistem imun tubuh dan pertumbuhan, serta perkembangan sel otak manusia untuk mencapai kesehatan yang optimal.²

Proses pengolahan susu bertujuan untuk memperoleh susu yang beraneka ragam, berkualitas tinggi, berkadar gizi tinggi, tahan simpan, mempermudah pemasaran dan transportasi, sekaligus meningkatkan nilai tukar dan daya guna bahan mentahnya. Proses pengolahan susu selalu berkembang sejalan dengan berkembangnya ilmu di bidang teknologi pangan.

Dengan demikian semakin lama akan semakin banyak jenis produk susu yang dikenal. Hal ini sangat menggembirakan dan merupakan langkah yang sangat tepat untuk mengimbangi laju permintaan pasar.

Secara alami, susu mengandung mikroorganisme kurang dari 5×10^3 per ml jika diperah dengan cara yang benar dan berasal dari sapi yang sehat. Berdasarkan SNI 01-6366-2000, batas cemaran mikroba dalam susu segar adalah *Total Plate Count* (TPC) $< 3 \times 10^4$ cfu/ml, koliform $< 1 \times 10^1$ cfu/ml, *Staphylococcus aureus* 1×10^1 cfu/ml, *Escherichia coli* negatif, *Salmonella* negatif, dan *Streptococcus* group B negatif. Beberapa bakteri seperti *Camphylobacter jejuni*, *E.coli*, dan *Salmonella* sp. Dilaporkan mengontaminasi susu dengan prevalensi kecil. Bakteri *Salmonella* sp merupakan bakteri berbahaya yang dikeluarkan dari saluran pencernaan hewan dan manusia bersama dengan feses. *Salmonella* sp merupakan salah satu yang sering mengontaminasi susu di samping *Salmonella* sp. Berdasarkan SNI 01-6366-2000, pemeriksaan *Salmonella* sp. dilakukan secara kualitatif dan harus negatif.³

Lactobacillus sp banyak ditemukan di alam dan spesiesnya banyak digunakan dalam industri makanan. *Lactobacillus* sp ditemukan disubstrat yang mengandung karbohidrat dan bahkan di membran mukosa pada manusia dan hewan. Terutama pada bagian oral kapital, pencernaan dan vagina, juga ditemukan di makanan fermentasi atau keju. *Lactobacillus* sp bersifat fermentatif dan juga aerotoleran (bisa tumbuh di aerob dan anaerob), dan juga suka di daerah asam atau di pH yang rendah dan kebanyakan *Lactobacillus* sp diklasifikasi probiotik.

Probiotik diterjemahkan sebagai mikroorganisme, bila dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dapat memberikan dampak bagi yang

konsumsi. Berdasarkan WHO ada 2 kriteria suatu bakteri yang digolongkan oleh probiotik, yaitu tahan terhadap asam (keasaman lambung dan garam empedu) dan memiliki efek antagonistik terhadap berbagai macam patogen.⁴

Penelitian ini bertujuan Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan *Lactobacillus* sp yang diisolasi dari susu segar terhadap bakteri patogen Gram (+) dan Gram (-) yaitu *Salmonella* sp, *Streptococcus mutan* secara *in vitro*.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik dengan menggunakan difusi cakram. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah produk susu segar kemasan yang dijual di supermarket di Kota Medan. Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu autoklaf, laminar air flow, petri, takar, tabung reaksi, tabung eppendorf 0.5 1.5 dan 2 ml, erlenmeyer, pipet mikro, jarum ose, inkubator, hot plate stirrer, sentrifus, kaca benda, mikroskop, lampu spiritus, aluminium foil, kertas saring, kertas wrap. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu susu segar, aquades, Safranin, MRS Broth, kristal violet, alkohol 70%, nutrien agar, nutrien Broth, *Salmonella* sp, *Streptococcus mutan*. Data yang dikumpulkan ditabulasi dengan menggunakan perangkat lunak Microsoft Office Exel 2010 yang selanjutnya akan ditampilkan dalam bentuk tabel, dan grafik.

Hasil

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian didapat hasil pengukuran zona hambat uji antimikroba pada susu segar terhadap bakteri *Streptococcus mutan*.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat uji antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* sp

Bakteri	Zona Hambat (mm)					
	Isolasi W1	Isolasi W2	Isolasi W3	Isolasi W4	Isolasi W5	Kontrol (-)
<i>Salmonella</i> sp						
Uji 1	8,8 mm	8,1 mm	6,6 mm	7,15 mm	7,35 mm	6 mm
Uji 2	10,725 mm	12,15 mm	11,4 mm	15,65 mm	16,5 mm	6 mm
Rata - Rata	9,7625 mm	10,125 mm	9 mm	11,4 mm	11,925 mm	6 mm

Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa hasil uji

yang dilakukan dengan menggunakan susu

segar sebagai uji antimikroba terhadap bakteri *Salmonella sp* pada isolasi W1, W2, W3, W4, W5 dan kontrol (-) memiliki efektivitas sebagai antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp*. Pada isolasi W1 di dapatkan zona hambat sebesar 9,7625 mm, 10,125 mm pada isolasi W2, 9 mm pada isolasi W3, pada isolasi W4 11,4 mm dan 11,925 mm pada isolasi W5, pada kontrol (-) 6 mm. Ini menunjukkan bahwa semakin tinggi aktivitas antimikroba BAL semakin besar zona hambatnya, kontrol (-) yang digunakan adalah akuades sebesar 6 mm.

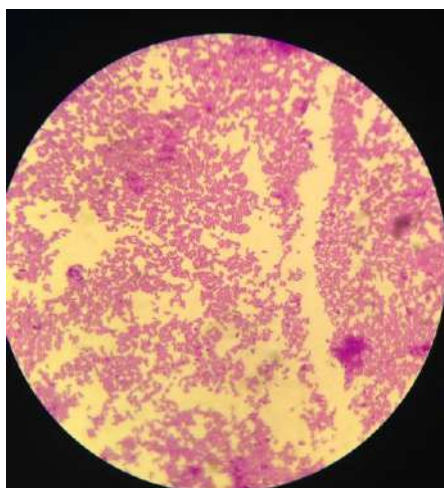


Gambar 1. Zona hambat pada bakteri *Steptococcus mutan*

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram, Uji Katalase dan Tipe Fermentasi Isolat BAL

Isolat BAL	Karakteristik Biokimia	
	Pewarnaan Gram	Uji Katalase
W1	Positif	Negatif
W2	Positif	Negatif
W3	Positif	Negatif
W4	Positif	Negatif
W5	Positif	Negatif

Pada tabel 2 hasil isolat BAL W1, W2, W3, W4 dan W5 pada pewarnaan memiliki hasil pewarnaan Gram positif, dan pada uji katalase isolat BAL W1, W2, W3, W4 dan W5 memiliki hasil uji katalase negatif.



Gambar 2. Pewarnaan Gram pada *Lactobacillus* dengan pembesaran 100x

Pembahasan

Hasil uji yang dilakukan dengan menggunakan susu segar sebagai uji antimikroba terhadap bakteri *Salmonella sp* pada isolasi W1, W2, W3, W4, W5 dan kontrol (-) menunjukkan efektivitas

sebagai antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp*. Jumlah total koloni pada penelitian yang dilakukan ini memenuhi persyaratan sediaan dengan target kerja. Menurut SNI ambang batas total bakteri pada susu sapi murni maksimal sebesar 3000.000 (3×10^6) CFU/ml sehingga susu sapi murni pada penelitian ini masih memenuhi ambang batas yang ditetapkan oleh SNI.⁵

Pada penelitian uji katalase yang dilakukan sejalan dengan yang dilakukan oleh Sari dkk (2012) di mana hasil uji negatif karena tidak menunjukkan adanya busa atau buih. Jika adanya gelembung udara menandakan hasil uji positif, jika tidak berarti hasil uji negatif.⁶ Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada sampel bakteri. Enzim katalase berperan dalam memecah H_2O_2 (Hidrogen Peroksida) menjadi H_2O dan O_2 . Hasil uji katalase positif ditandai dengan adanya gelembung-gelembung oksigen.⁷

Uji pewarnaan Gram dilakukan dengan cara metode pengecatan Gram. menunjukkan sel Gram positif akan berwarna biru atau ungu dan sel Gram negatif akan berwarna kemerahan.⁶ Menurut Leboffe & Pierce (2011) kemampuan untuk tahan terhadap proses

decolorization tidak didasarkan pada perbedaan konstruksi dinding antara sel Gram positif dan Gram negatif. Dinding sel Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang lebih tinggi dikarenakan adanya membran luar dan lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Alkohol atau aseton yang digunakan sebagai *decolorizer* mampu mengekstrak lipid menyebabkan dinding sel Gram negatif menjadi berpori dan tidak mampu untuk menyalurkan kompleks kristal violet-iodin sehingga menyebabkan kehilangan warna. Lapisan peptidoglikan yang tebal dapat menjebak kompleks Kristal violet-iodin secara lebih efektif sehingga sel Gram positif lebih tahan terhadap proses *decolorization*.⁸

Proses *decolorization* adalah proses yang sangat penting dalam pewarnaan Gram. Sangat mungkin terjadi *over decolorize* jika terlalu lama meninggalkan alkohol terlalu lama menyebabkan warna sel menjadi kemerahan pada sel Gram positif. Dan juga ada kemungkinan *under decolorize* dan menghasilkan sel Gram positif menjadi berwarna ungu. Usia dari kultur juga menentukan keberhasilan dari hasil pewarnaan Gram. Kultur Gram positif yang lebih tua bisa kehilangan kemampuan untuk menahan *decolorization* dan memberikan hasil seperti Gram negatif.⁹

Selain untuk nutrisi, *Lactobacillus* dikenal untuk menghasilkan berbagai senyawa yang mengerahkan aksi antimikroba langsung menuju melawan bakteri dan virus, meskipun efek pada virus belum terdokumentasi dengan baik pada tingkat molekuler. Asam laktat dapat dianggap sebagai kunci senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Lactobacilli*. Misalnya, aktivitas antimikroba yang kuat dari *L. rhamnosus* GG terhadap *S. enterica* serovar Typhimurium itu terbukti karena akumulasi asam laktat. Selain mengeluarkan kegiatan melalui menurunkan pH dan melalui bentuk terdisosiasi, asam laktat juga dikenal dengan fungsinya sebagai *permeabilizer* dari membran gram negatif bakteri luar, yang memungkinkan senyawa lain untuk bertindak sinergis dengan asam laktat. Sebagai tambahan, asam organik seperti asam laktat dapat menangkap elemen penting bagi pertumbuhan, seperti besi.¹⁰

Bakteriosin mempunyai efek bakterisida atau bakteristatik terhadap bakteri yang sensitif baik yang patogen maupun bakteri

perusak atau pembusuk.¹¹ Bakteriosin sebagai agen biopreservatif sangat potensial digunakan untuk mengendalikan beberapa bakteri kontaminan. Secara umum kondisi optimum produksi bakteriosin dipengaruhi oleh fase pertumbuhan, pH media, suhu inkubasi, jenis sumber karbon, jenis sumber nitrogen, dan konsentrasi NaCl. Faktor pH media berpengaruh terhadap pertumbuhan sel bakteri sehingga mempengaruhi produksi bakteriosin. Produksi bakteriosin meningkat dengan meningkatnya pH hingga pH optimum, selanjutnya mengalami penurunan. Sementara itu faktor suhu berpengaruh terhadap meningkatnya produksi bakteriosin sekaligus dapat membunuh BAL yang bersangkutan.¹²

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan jumlah total koloni bakteri asam laktat dari susu segar kemasan yang dilihat secara makroskopik yaitu 200×10^8 CFU/g.BAL yang diisolasi dari susu segar menghasilkan senyawa antimikroba yang efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *Streptococcus mutans*, dan *Samonella sp.*

Referensi

1. Grahatika R. Identifikasi Dan Pemeriksaan Jumlah Total Bakteri Pada Susu Sapi di Kabupaten Karanganyar. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009
2. Nurhidayah M, Ginting S, Lubis Z. Pengaruh Konsentrasi Susu Sapi Segar Dan Konsentrasi Dekstrin Terhadap Mutu Minuman Cokelat Instan. J.Rekayasa Pangan dan Pert. Vol. 2 No. 3: 2014
3. Suwito W. Bakteri Yang Sering Mencemari Susu: Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi, dan Cara Pengendaliannya. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian Vol. 29 No. 3: 2010
4. Widiyaningsih EN. Peran Probiotik Untuk Kesehatan. Jurnal Kesehatan Vol. 4 No. 1: 14-20. 2011.
5. Nahak RJ, Khotimah S, Turnip M. Aspek mikrobiologis susu sapi murni dengan penambahan sari rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*). Jurnal Protobiont Vol.3 No.3: 2014.

6. Sari AR, Nofiani R, Puji A. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Genus *Leuconostoc* Dari Pekasam Ale-Ale Hasil Formulasi Skala Laboratorium. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* Vol.1 No.1: 2012.
7. Wennanda NG, Kasim AN. Pembuatan Minuman Fermentasi Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas*) dengan Menggunakan Starter Dadih dari Berbagai Daerah di Sumatra Barat. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Andalas. 2012.
8. Leboffe M, Pierce B. A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. 4th Edition, Morton, Englewood. 2011.
9. Fachrial E. Isolasi, Aktivitas Antimikroba, Karakterisasi Bakteriosin Dan Identifikasi Molekular 16sRrna Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Asal Kabupaten Solok Sumatera Barat. Universitas Andalas. 2015.
10. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev.*72(4):728-64. doi: 10.1128/MMBR.00017-08. 2008.
11. Nurliana, Sudirman I, Sudarwanto M, Soejoedono RR. Pengaruh Bakteriosin Produksi Bakteri Asam Laktat Isolat Indonesia terhadap Jumlah Bakteri dalam Susu Pasteurisasi. *Agripet.* 9(1): 50-56. 2009.
12. Usmiati S, Marwati T. Seleksi Dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin Dari *Lactobacillus Sp.* *J.Pascapanen* 4(1) : 27-37. 2007.