

SUSU

POTENSI PANGAN PROBIOTIK

Sri Melia
Endang Purwati
Yuherman
Indri Juliyarsi
Ferawati
Hendri Purwanto



Andalas University Press

SUSU

POTENSI PANGAN PROBIOTIK

- Penulis** : Sri Melia
Endang Purwati
Yuherman
Indri Juliyarsi
Ferawati
Hendri Purwanto
- Desain Sampul** : Dyans Fahrezionaldo
- Tata Letak** : Dyans Fahrezionaldo
Safriyani
Ikhsanul Anwar
Syamsul Hidayat
- ISBN** : 978-602-6953-40-7
- Ukuran Buku** : 23 x 15,5 cm
- Tahun Terbit** : Juli 2018
- Cetakan** : Pertama
- Anggota** : *Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI)*

Dicetak dan diterbitkan oleh :

*Andalas University Press
Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129
Telp/Faks. : 0751-27066
email : cebitunand@gmail.com*

Hak Cipta Pada Penulis © 2018

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebahagian atau seluruh isi buku tanpa izin tertulis dari penerbit.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmad dan karunianya sehingga buku ajar Susu Potensi Pangan Probiotik dapat penulis selesaikan. Pembahasan materi pada buku ajar ini menjelaskan landasan teori sampai pada hasil – hasil penelitian tentang susu dan potensinya sebagai salah satu sumber probiotik yang penulis lakukan di laboratorium. Buku ajar ini dapat dijadikan sebagai literatur dalam perkuliahan maupun penelitian terkait susu sebagai probiotik.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada Dekan Fakultas Peternakan, Kepala Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Ketua Bagian Teknologi Hasil Ternak, dan DIKTI dalam skim penelitian PDUPT 2017 serta rekan-rekan peneliti yang terlibat selama penelitian dan penulisan buku ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan buku ini. Kritik dan saran untuk penyempurnaan buku ini sangat penulis harapkan. Semoga buku ini dapat dimanfaatkan oleh pembaca terutama mahasiswa untuk materi tambahan perkuliahan maupun pembahasan hasil penelitian.

Tim Penulis

KATA SAMBUTAN

DEKAN FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS

Dekan bersama jajaran pimpinan mensyukuri sekali atas terbitnya buku ini dalam rangka peringatan hari ulang tahun ke 55 Fakultas kita. Buku dan publikasinya menandai bahwa Fakultas telah menjalankan fungsi edukasi, pengkajian dan pengabdian. Oleh karena, salah satu ukuran sukses dari institusi perguruan tinggi ialah kontribusi gagasan, inovasi dan perbaikan kepada mutu kehidupan.

Pada posisi ini buku merupakan bukti kinerja, bahwa Fakultas telah berkiprah menjalankan misinya. Dengan begitu, Fakultas menjejak-an diri sebagai pelaku utama dari proses transformasi strategis dan percepatan pengembangan masyarakat. Sudah barang tentu, untuk mengantisipasi masa depan dengan kompetensi sumberdaya manusia yang memadai.

Perguruan tinggi memang merupakan institusi pendidikan strategis. Pada usia yang ke 55, melalui publikasi buku, menandai pula adanya satu tonggak kematangan institusi. Apalagi akreditasi Fakultas secara rutin dan konsisten meraih nilai A.

Melalui buku ini terungkap bukti nyata proses pembelajaran dan pengkajian yang panjang. Kemudian dalam rangka, agar Fakultas kita selalu memantapkan diri menjadi pusat perbaikan kompetensi sumber daya manusia. Sekaligus membina kelahiran pemimpin masa depan dalam bidang peternakan.

Publikasi buku ini juga mencerminkan bahwa Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang merajut peran kronologis dari sejarahnya. Berkaca kepada pengalaman ilmiah dan empiris itu, kita bisa merumuskan orientasi sebagai agenda kedepan. Dengan demikian ditengah peringatan dari tonggak sejarah, publikasi buku menunjukkan beberapa hal;

1. Capaian inovasi dan kontribusi ide, gagasan dan cermin pemikiran dari civitas akademika terhadap kemajuan pembangunan peternakan.
2. Kumpulan pengalaman, temuan dan proses berfikir untuk menjadi rujukan beternak dan sekaligus sebagai basis pengembangan ke masa depan.
3. Tanda peringatan hari lahir satu institusi dengan dokumen yang sesuai dengan marwah suatu perguruan tinggi itu sendiri.

Pada kesempatan ini Dekan dan jajaran pimpinan mengucapkan selamat, tahniah dan terima kasih. Pertama, kepada semua pihak yang berperan dalam proses mengelola Fakultas. Teruntuk mahasiswa, alumni, tenaga pengajar dan staf administrasi (termasuk yang sudah pensiun dan meninggalkan kita). Kemudian kepada organisasi dan perorangan yang menyumbang bagi keberlanjutan Fakultas. Buat para peternak dan lembaga terkait dalam pengembangan usaha peternakan sebagai pelaku utama atau pelaku usaha. Akhirnya, kepada panitia Dies Natalis ke 55 dan Laboratorium Komunikasi dan Pembangunan Peternakan. Mereka telah mengusahakan agar buku buku bisa menjadi fakta.

Demikianlah, semoga segenap unsur yang berkolaborasi sinergis dalam mengelola Fakultas Peternakan Universitas Andalas, teguh dan mantap menatap masa depan yang lebih cerah. Amin.

Padang, Oktober 2018
Dekan

Prof. Dr. Ir. H. James Hellyward, M.S.

sample andalas university press (percetakan unand)

DAFTAR ISI

PRAKATA	iii	
DAFTAR ISI	vii	
DAFTAR TABEL	ix	
DAFTAR GAMBAR	xi	
BAB I	DEFINISI DAN SIFAT SUSU	1
1.1	Definisi Susu	1
1.2	Sifat Fisik Dan Kimia Susu	2
1.3	Karakteristik Susu Berdasarkan Spesies Ternak	8
1.4	Standar Mutu Susu	9
	DAFTAR PUSTAKA	10
BAB II	MIKROBIOLOGI SUSU	13
2.1	Jenis – Jenis Mikroorganisme Yang Mencemari Susu	15
2.2	Teknik Pemerahan Dan Penanganan Susu	23
2.3	Tahapan Pemerahan	24
2.4	Pasteurisasi Susu	31
2.5	Masa Penyimpanan Susu Pasteurisasi	33
2.6	Sterilisasi Susu	36
	DAFTAR PUSTAKA	39
BAB III	BAKTERI ASAM LAKTAT PADA SUSU	43
3.1	Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat	44
3.2	Total Koloni Bakteri Aerob Dan Total Koloni Bakteri Asam Laktat Susu	56
3.3	Hasil Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Susu	57
	DAFTAR PUSTAKA	59

BAB IV	BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PROBIOTIK	62
4.1	Ketahanan BAL Terhadap Asam Klorida	65
4.2	Ketahanan BAL Terhadap Garam Empedu	67
4.3	Sensitivitas Isolat BAL Terhadap Antibiotik	70
4.4	Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat	70
4.5	Persentase Hidrofobisitas Bakteri Asam Laktat	72
	DAFTAR PUSTAKA	73
BAB V	BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI BIOPRESERVATIF	77
5.1	Bakteriosin	77
5.2	Sintesis Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat	79
5.3	Mekanisme Kerja Bakteriosin	80
5.4	Aplikasi Bakteriosin	81
	DAFTAR PUSTAKA	85
BAB VI	PRODUK OLAHAN SUSU FERMENTASI	87
6.1	Keju	87
6.2	Kefir	93
6.3	Yogurt	101
6.4	Dangke	105
6.5	Mentega	108
6.6	Es Krim	111
6.7	Dadiah	115
	DAFTAR PUSTAKA	120
BIODATA PENULIS		125

sample andalas university press (percetakan unand)

DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Hal
1	Komposisi Rata – Rata Susu (%) dari Berbagai Hewan Mamalia	9
2	Komposisi Kimia Susu Kerbau, Susu Sapi dan Kambing di Sumatera Barat (%)	9
3	Syarat Mutu Susu Segar Berdasarkan SNI No: 01-3141-2011	9
4	Persyaratan mutu Batas Maksimum Cemaran Mikroba pada Susu	14
5	Total Koloni Bakteri Aerob	14
6	Perbandingan Jenis Pasteurisasi dengan Perbedaan Daya Simpannya	33
7	Syarat Mutu Susu Pasteurisasi	35
8	Pembuatan PCR Mix dalam 1 eppendorf	53
9	PCR Program	53
10	Rataan Total Koloni BAL Asam Laktat Susu Kerbau, Sapi dan Kambing di Sumatera Barat	56
11	Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat Susu Segar di Sumatera Barat	58
12	Perbedaan antara Bakteriosin dan Antibiotik	77
13	Klasifikasi Bakteriosin yang dihasilkan Bakteri Asam Laktat	78
14	Contoh Bakteriosin Yang Diisolasi Dari Pangan	83
15	Contoh Patent Aplikasi Bakteriosin Pada Makanan	84
16	Komposisi Kimia Kefir	95
17	Mikroba yang terdapat pada biji kefir/ <i>kefir grain</i>	100
18	Syarat Mutu Yogurt Berdasarkan SNI No: 2981:2009	102
19	Komposisi Kimia Dangke Susu Sapi Kabupaten Enrekang	108
20	Syarat mutu mentega	109
21	Syarat Mutu Es Krim	111
22	Komposisi Kimia Dadiah	116
23	Kualitas Dadiah di Sumatera Barat	116

24	Total Koloni BAL Dadih Dari Lima Kabupaten Di Sumatera Barat	117
25	Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Pada Dadih	118

sample andalas university press (percetakan unand)

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Hal
1	Biakan <i>Staphylococcus aureus</i> dalam media <i>Vogel Johnson agar</i>	17
2	Biakan koliform pada media <i>violet red bile agar</i>	19
3	Koloni yang diduga <i>L. Monocytogenes</i> pada media Listeria Selctive Agar (a) dan Hasil pewarnaan gram bakteri <i>L. Monocytogenes</i>	22
4	Peralatan Pemerahan Susu	26
5	Urutan cara membersihkan puting sapi	27
6	Pemerahan susu menggunakan tangan	28
7	Pemerahan susu dengan mesin (b) Mesin pemerah susu	29
8	In Bottle sterilizatin	37
9	Ilustrasi aliran berkesinambungan	37
10	Bakteri asam laktat dalam media MRS broth	46
11	Bakteri asam laktat dalam media MRS agar	46
12	Bentuk bulat (coccus), b. Bentuk batang (basil)	48
13	Metode Pewarnaan Gram	49
14	Uji Katalase	49
15	Strip API CHL 50 (Bio Merieux, Prancis)	50
16	Proses Pengolahan Data di WEB API CHL 50	51
17	Running Gel Elektroforesis	54
18	Hasil PCR Setelah Eletroforesis	55
19	Urutan nukleotida bakteri asam laktat	55
20	Hasil BLAST bakteri asam laktat	56
21	Phylogenetic tree bakteri asam laktat	56
22	Tahapan Seleksi Bakteri Probiotik	65
23	Aktivitas bakteriosin terhadap beberapa suhu	81
24	Keju Cottage b.Keju Mozzarella	88
25	Keju Limburger b) Keju Roquefort	89
26	Keju Edam b)Keju Cheddar	90
27	Keju Parmesan	91
28	Diagram Alir proses Pembuatan Keju	93

29	Diagram Alir Proses Pembuatan Kefir	98
30	Kefir grain atau bibit kefir	99
31	Bagan Proses Pembuatan Yogurt	104
32	Diagram Alir Proses Pembuatan Dangke	106
33	Diagram Alir Pembuatan Mentega	110
34	Diagram alir Proses Pembuatan Es Krim	113
35	Diagram Alir Proses Pembuatan Dadiah	119

sample andalas university press (percetakan unand)

BAB I

DEFINISI DAN SIFAT SUSU

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa mampu menjelaskan definisi susu menurut berbagai referensi.
2. Mahasiswa mengetahui faktor apa saja yang menentukan sifat fisik dan kimia susu.
3. Mahasiswa mengetahui penyebab perbedaan karakteristik susu pada berbagai spesies ternak.

1.1 DEFINISI SUSU

Susu merupakan suatu sekresi kelenjar ambing dari sapi yang sedang laktasi, atau ternak lain yang sedang laktasi, yang diperoleh dari pemerahan secara sempurna (tidak termasuk kolostrum), dengan tanpa penambahan atau pengurangan suatu komponen (Suardana dan Swacita, 2009). Soeparno *et al.*, (2011) mendefinisikan susu sebagai suatu sekresi kelenjar susu dari sapi yang sedang laktasi atau ternak lain yang sedang laktasi, dilakukan pemerahan secara sempurna, tidak termasuk kolostrum atau tambahan lainnya serta tidak dikurangi atau ditambahkan oleh suatu komponen. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2011) susu segar merupakan cairan bersumber dari kelenjer ambing ternak sapi yang bebas dari penyakit dan bersih, ternak sapi diperah sesuai dengan prosedur pemerahan yang benar, yang tidak mendapat penambahan apapun atau dikurangi kandungannya dan tidak mengalami perlakuan seperti pendinginan.

Berdasarkan kandungan gizinya susu tergolong pangan yang berkualitas tinggi, ditinjau dari kandungan protein, lemak, mineral, dan beberapa vitamin. Susu merupakan pilihan pertama dalam memenuhi kebutuhan protein, terutama pada kasus penderita gizi buruk, sehingga ketersediaan susu perlu diperhatikan untuk memenuhi angka kecukupan gizi yang dianjurkan. Susu yang baik adalah susu yang mengandung jumlah bakteri sedikit, tidak mengandung spora mikroba patogen, bersih yaitu tidak mengandung debu atau kotoran lainnya dan mempunyai cita rasa (*flavour*) yang baik (Saleh, 2004).

1.2 SIFAT FISIK DAN KIMIA SUSU

A. SIFAT FISIK SUSU

Sifat fisik susu merupakan sifat – sifat atau karakteristik yang dapat dilihat secara visual sehingga dapat dilihat kualitas fisiknya. Susu bukan hanya merupakan bahan yang mempunyai senyawa kimia kompleks, tetapi juga mempunyai sifat fisik yang secara alami sangat kompleks. Beberapa sifat fisik susu yang sangat penting adalah Berat jenis, viskositas, pH, titik beku, warna, rasa dan aroma. Kualitas fisik dan kimia susu sapi segar dipengaruhi oleh faktor bangsa sapi perah, pakan, sistem pemberian pakan, frekuensi pemerahan, metode pemerahan, perubahan musim dan periode laktasi (Lingathurai, *et al.*, 2009).

1. BERAT JENIS (BJ) DAN *VISKOSITAS*

Viskositas dan berat jenis merupakan sifat fisik susu yang dipengaruhi oleh komposisi susu, nilai protein dan lemak susu. Hariono *et al.*, (2011) menjelaskan viskositas diukur menggunakan alat *viscosimeter* tipe *falling ball* dengan persamaan: $\mu = K (\rho t - \rho) * t$, dengan: μ = viskositas (cP); K = konstanta viscosimeter = 3,3; ρt = massa jenis bola yang digunakan (g/ml), dimana untuk bola gelas = 2,53 (g/cm³); bola stainless steel = 8,02 (g/cm³) dan bola tantalum = 16,6 (g/cm³); ρ = berat jenis fluida yang diukur (g/cm³); t = waktu yang dibutuhkan bola untuk jatuh dari batas atas sampai batas bawah (menit). *Viskositas* susu akan meningkat diikuti meningkatnya berat jenis susu. Semakin kental susu maka semakin banyak jumlah padatan didalam susu yang akan meningkatkan berat jenis susu. Oleh karena itu, *viskositas* dan berat jenis selalu berbanding positif. *Viskositas* susu kambing lebih besar dibandingkan susu sapi, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Meihai (1974) yang menyebutkan bahwa viskositas susu sapi dan susu kambing berturut-turut 1,7 cP dan 2,12 cP.

Susu mempunyai berat jenis yang lebih besar dari pada air. BJ air susu 1,027-1,035 dengan rata-rata 1,031 g/cm³. Menurut Standar Nasional Indonesia (2011), BJ air susu adalah minimal 1,027 g/cm³ pada suhu 27,5°C. Berat jenis diukur 3 jam setelah pemerahan untuk mendapatkan hasil yang akurat (Hariono *et al.*, 2011). Menurut Herdiansyah (2011), jika berat jenis susu rendah maka kekentalan susu tersebut sangat rendah, namun sebaliknya jika *viskositas* kandungan bahan kering tinggi atau berat jenis susu tinggi maka *viskositas* susu tersebut akan tinggi juga. Berat jenis adalah massa di bagi volume, sedangkan berat spesifik adalah berat jenis zat dibandingkan dengan

berat jenis air pada suhu yang sama (Fitriyanto *et al.*, 2013). Berat jenis dipengaruhi oleh bahan padatan atau bahan kering yang dihasilkan dari asupan pakan.

2. WARNA

Merupakan suatu sifat bahan yang dianggap berasal dari penyebaran spektrum warna. Warna air susu secara umum adalah dari putih kebiruan dan juga kuning keemasan. Warna kuning dari air susu bersumber dari lemak dan caroten yang dapat larut. Yusuf (2010) menyatakan bahwa ciri khas susu yang baik dan normal adalah susu tersebut terdiri dari konversi warna kolostrum yang berwarna kuning dengan warna air susu yaitu putih, jadi susu normal itu berwarna putih kekuning-kuningan. Kriteria lainnya adalah jika berwarna biru maka susu telah tercampur air, jika berwarna kuning maka susu mengandung karoten, dan jika berwarna merah maka susu tercampur dengan darah atau susu berasal dari ternak yang menderita mastitis atau radang ambing.

3. pH

Nilai pH dapat diartikan suatu kondisi yang bersifat kebasaaan atau keasaman susu. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Proses keasaman susu juga dapat disebabkan oleh berbagai senyawa yang bersifat asam seperti senyawa-senyawa fosfat yang kompleks, asam sitrat, asam-asam amino dan karbon dioksida yang larut dalam susu. Sawitri *et al.*, (2010) menyatakan bahwa perubahan laktosa menjadi asam laktat akan disertai dengan terbebasnya ion hidrogen akan meningkatkan keasaman dan menurunkan pH. Penurunan pH susu menyebabkan perubahan bentuk susunan komponennya, akibat terputusnya fosfat koloidal dan berkurangnya ikatan antara kation dengan protein. Apabila nilai pH air susu lebih tinggi dari batasan normalnya biasanya dapat diartikan bahwa ternak terkena mastitis namun jika pH susu dibawah 6,5 dapat disebabkan oleh bakteri atau penanda adanya kolostrum susu. Menurut Syam (2006) yang menyatakan bahwa pH susu segar yaitu antara 6,6 – 6,8 nilai ini sama dengan pH susu pasteurisasi.

Nilai pH susu yang meningkat akan menyebabkan viskositas susu juga meningkat sebagai akibat pecahnya butiran kasein (Wendt *et al.*, 1998). Penurunan pH susu pada umumnya langsung menyebabkan sedikit penurunan viskositas, pada penurunan pH yang lebih drastis akan menyebabkan peningkatan viskositas karena adanya agregasi,

kasein viskositas susu sedikit dipengaruhi proses homogenisasi (Walstra *et al.*, 1999).

4. RASA DAN AROMA SUSU

Susu segar memiliki rasa sedikit manis dan bau (aroma) khas. Rasa manis disebabkan adanya gula laktosa di dalam susu, meskipun sering dirasakan ada sedikit rasa asin yang disebabkan oleh klorida. Bau khas susu disebabkan oleh beberapa senyawa yang mempunyai aroma spesifik dan sebagian bersifat volatil. Oleh sebab itu, beberapa jam setelah pemerahan atau setelah penyimpanan, aroma khas susu banyak berkurang. Aroma air susu sangat mudah berubah dan meyerap bau sekitar. Sifat lemak dalam air susu dapat menyerap bau sehingga menyebabkan aroma tidak sedap pada susu apabila tidak mengalami penganan yang benar. Selain itu sisa pakan yang tidak dibersihkan sebelum pemerahan menyebabkan perubahan aroma susu.

5. TITIK BEKU SUSU

Pengukuran titik beku susu digunakan untuk mengetahui jumlah air yang ditambahkan atau untuk pengenceran. Untuk menentukan titik beku susu diketahui dengan alat yang disebut dengan Krioskop. Air membeku pada temperatur 0°C, sedangkan titik beku susu sekitar -0,50 sampai -0,61°C, rata-rata -0,55°C. Perbedaan titik beku susu ini yang membedakan susu dengan air. Rendahnya titik beku susu dibanding air karena di dalam susu terdapat zat terlarut seperti laktosa dan abu.

6. INDEK REFRAKSI SUSU

Indeks Refraksi suatu larutan berkaitan erat dengan kandungan padatnya. Pengukuran indeks refraksi berguna untuk mengetahui jumlah zat padatan yang dikandung zat makanan yang berbentuk cairan seperti susu. Abbe Refraktometer banyak dipakai untuk menentukan Indeks Refraksi susu segar maupun susu kental. Terutama untuk mengetahui tingkat penguapan pada waktu pembuatan susu kental. Dalam pengukuran Indeks Refraksi kadar lemak perlu dihilangkan terlebih dahulu karena dapat mengganggu pengukuran.

7. TITIK DIDIH SUSU

Titik didih susu berhubungan dengan derajat asam. Susu yang sudah mengandung asam, bila dididihkan akan pecah atau menggumpal.

Pecahnya susu disebabkan oleh koagulasi kasein akibat keasaman yang tinggi. Disamping itu, susu yang mengandung kolostrum atau sapi yang menderita mastitis dimana kadar garamnya tinggi dalam susu, akan mempercepat kerusakan susu apabila dididihkan. Titik didih susu segar adalah 100,16°C.

B. SIFAT KIMIA SUSU

1. PROTEIN SUSU

Protein adalah senyawa organik kompleks dengan berat molekul tinggi, protein merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Kualitas susu ditentukan oleh jumlah protein yang terkandung dalam air susu. Kandungan protein susu rata-rata 3.20% dengan komponen penyusun diantaranya casein 2.70% dan albumin sebanyak 0,50%. Susu juga mengandung globulin dalam persentase yang sedikit.

Kandungan albumin terlarut dalam air susu sebanyak 5 g/kg. Albumin susu menjadi padat pada suhu 64°C, hal ini sama dengan sifat protein telur. Namun kandungan albumin dalam susu hanya sedikit sehingga pada saat pasteurisasi tidak terlihat. Albumin hanya dapat dilihat berupa titik halus dinding dan dasar panci. Kandungan albumin susu tinggi pada saat awal laktasi sampai 7 hari setelah laktasi dan kemudian normal kembali. Jika dibandingkan dengan protein hewani lainnya maka dalam satu liter susu setara dengan 165 gram protein daging sapi, 185 gram protein ikan, 155 gram protein hati sapi, dan 5 butir telur besar (Aritonang, 2009). Susu yang diperoleh dari sapi perah yang terkena mastitis akan mengalami penurunan kadar protein susu. Mastitis mempengaruhi penurunan kadar protein susu sebesar 53% dan semakin tinggi nilai mastitis maka kadar protein susu semakin rendah (Suryowardojo, 2012).

2. LEMAK SUSU

Lemak merupakan ester gliseril yang banyak mengandung komponen asam jenuh, pada suhu kamar lemak berbentuk padat dan lemak yang berbentuk cair disebut minyak dengan komponen utamanya adalah asam lemak tak jenuh (Wadani *et al.*, 2013). Lemak tersusun dari lemak yang bersifat jenuh, lemak yang tidak jenuh dan asam polyunsaturated dengan kandungan 60 -70% lemak jenuh, 25,30% lemak tak jenuh dan asam polyunsaturated sebanyak 4%. Lemak juga mengandung vitamin A, vitamin D, tokoferol (vitamin E), karoten,

sterol dan fosfolipid. Kandungan tersebut terdapat dalam jumlah yang sedikit.

Menurut (Attaie dan Richter 2000), globula lemak susu kambing lebih kecil dan mudah beremulsi dengan baik dalam susu. Lemak di dalam susu terdapat dalam jutaan bola kecil yang berdiameter antara 1-20 μm . Diameter globula lemak susu kambing berkisar antara 0,92-8,58 μm , sedangkan susu sapi berkisar antara 0,92-15,75 μm .

Susu mengandung kurang lebih 400 asam lemak yang berbeda yang membuat susu adalah sumber lemak alami yang paling bagus. Kadar lemak dipengaruhi oleh asam asetat yang berasal dari hijauan (Ramadhan *et al.* 2013). Ternak yang diberi pakan tambahan konsentrat akan menurunkan kadar lemak susu dan pakan yang hanya terdiri dari hijauan memiliki kadar lemak yang lebih tinggi dibanding pakan yang ditambah dengan konsentrat. Kandungan lemak pada susu dapat menurun dengan adanya permasalahan pada ambing ternak (mastitis). Mastitis mempengaruhi penurunan kadar lemak susu sebesar 33% (Suryowardojo, 2012)

Menurut Siregar (1992) faktor-faktor yang mempengaruhi kadar lemak susu antara lain jenis ternak yang dipelihara, umur pemerahan, jenjang laktasi, interval pemerahan, keadaan iklim setempat dan ransum yang diberikan. Apabila dalam ransum yang dominan diberikan adalah hijauan maka kandungan lemak dalam susu akan tinggi karena serat kasar yang dikonsumsi ternak ruminansia akan difermentasi oleh mikroba rumen menghasilkan asam asetat sebagai bahan dasar pembentukan lemak susu. Lemak susu juga mempengaruhi rasa yaitu dapat menambahkan rasa gurih pada susu.

3. LAKTOSA

Laktosa merupakan bentuk karbohidrat yang hanya ada dalam air susu. Laktosa dalam susu terdapat dalam keadaan larut. Laktosa merupakan gabungan dari glukosa dan galaktosa. Laktosa berfungsi memberikan rasa sedikit manis pada susu. Jumlah persentasi laktosa dalam susu sebanyak 4,60%. Keberadaan laktosa dalam susu menyebabkan beberapa orang mengalami gangguan pencernaan (mencret) apabila mengkonsumsi susu. Hal ini diakibatkan beberapa orang memproduksi enzim lactase dalam jumlah yang sangat sedikit dalam mukosa usus mereka. Kondisi orang yang mencret saat mengkonsumsi susu disebut juga dengan *lactose intolerance*. Laktosa dapat dirusak oleh bakteri pembentuk asam.

Kadar laktosa susu kambing hasil penelitian Fox (2001) dan Chandan *et al.* (2007) berturut-turut 4,70% dan 4,10%. Kadar laktosa dipengaruhi oleh musim, tingkat laktasi, peningkatan nilai lemak, protein, BCTL dan mineral yang menyebabkan nilai kadar laktosa menjadi rendah (Haenlein 2004). Kadar laktosa susu kambing kira-kira 0,2-0,5% lebih rendah dibandingkan susu sapi (Chandan *et al.* 1992). Kandungan laktosa juga dapat berubah dengan adanya perlakuan yang dijelaskan dalam penelitian Hariono *et al.*, (2011) dengan penyinaran ultraviolet pada susu dengan metode sirkulasi memberikan nilai 4,03% laktosa pada empat sirkulasi dengan nilai awal 4,35%.

4. AIR DAN MINERAL

Air berfungsi sebagai bahan yang dapat mendispersikan berbagai senyawa yang ada dalam bahan makanan. Air dapat melarutkan berbagai bahan makanan seperti garam, vitamin yang larut air, mineral dan senyawa – senyawa lainnya. Kandungan air dalam bahan makanan ikut menentukan daya simpan dan kesegaran bahan itu. Untuk memperpanjang masa simpan suatu bahan, sebagian air dalam bahan harus dihilangkan dengan beberapa cara tergantung dari jenis bahan. Umumnya dilakukan dengan pengeringan seperti pembuatan susu bubuk. Pada pembuatan susu kental prinsipnya adalah mengurangi kadar air dengan cara dehidrasi melalui proses penguapan dengan alat evaporator.

Mineral pada susu dapat diukur dengan menguapkan air susu sampai kering kemudian dibakar pada panas rendah hasil pembakaran tersebut berupa abu yang didalamnya terkandung mineral bahan – bahan mineral yang dikandung oleh susu. Kandungan mineral dalam susu hampir tidak berubah walaupun ternak perah diberikan pakan yang berbeda. Komponen yang sering mengalami perubahan dalam susu diantaranya yodium. Pemberian pakan yang berbeda menyebabkan perubahan kandungan yodium dalam susu. Mineral yang sangat penting dimiliki susu yaitu kalsium dan forfor dan beberapa *trace mineral* lainnya seperti besi, tembaga, aluminium, boron, seng dan mangan.

5. VITAMIN DAN ENZIM

Kadar vitamin di dalam air susu tergantung dari jenis makanan yang diperoleh ternak sapi dan waktu laktasinya. Vitamin diukur dengan satuan International Units (IU) dan mg. vitamin yang terdapat didalam

lemak ADEK, dan vitamin yang larut didalam air susu, tergolong vitamin B kompleks, vitamin C, vitamin A, provitamin A dan vitamin D. Vitamin yang larut didalam air susu yang terpenting adalah vitamin B1, B2, asam nikotinat dan asam pantotenat. Bila air susu dipanaskan atau dimasak, dipasteurisasi atau disterilisasi maka 10-30% vitamin B1 akan hilang, vitamin C akan hilang 20-60%. Enzim berfungsi untuk mengolah suatu bahan menjadi bahan lain dengan jalan autolyse. Enzim yang terkenal adalah peroxydases, reductase, katalase dan phospatase. Dengan adanya pemanasan, enzim tidak akan berfungsi lagi (Rahzarni, 2003).

1.3 KARAKTERISTIK SUSU BERDASARKAN SPESIES TERNAK

Komposisi kimia susu dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya spesies ternak perah, pakan, sistem pemberian pakan, frekuensi pemerahan, metode pemerahan, perubahan musim, kondisi lingkungan dan periode laktasi. Hasil penelitian Rosartio *et al.*, 2015 kondisi lingkungan menyebabkan perbedaan produksi dan komposisi susu kambing Peranakan Ettawa salah satunya diakibatkan oleh perbedaan komposisi pakan dan konsumsi nutrien. Ketinggian tempat berpengaruh terhadap temperatur lingkungan, produksi dan ketersediaan pakan hijauan, sehingga akan berpengaruh secara tidak langsung terhadap konsumsi pakan, produksi dan kualitas susu yang dihasilkan.

Jenis ternak yang berbeda memberikan nilai yang berbeda terhadap karakteristik susu yang dihasilkan sebagai contoh Karakteristik susu kambing jika dibandingkan dengan susu sapi susu kambing memiliki warna susu lebih putih, globula lemak susu lebih kecil dengan diameter 0,73 – 8,58 μm , mengandung mineral kalsium, fosfor, vitamin A, E, dan B kompleks yang tinggi, dapat diminum oleh orang-orang yang alergi minum susu sapi dan untuk orang-orang yang mengalami berbagai gangguan pencernaan (*lactose intolerance*) dan dari segi produktivitas, produksi susu kambing lebih cepat diperoleh karena kambing telah dapat berproduksi pada umur 1,5 tahun, sedangkan sapi baru dapat berproduksi pada umur 3-4 tahun, tergantung ras (Saleh, 2004). Jika dilihat dari komponen kimia setiap hewan mamalia yang berbeda memiliki kandungan gizi pada Tabel 1 dan Tabel 2 berikut:

Tabel 1. Komposisi Rata – Rata Susu (%) dari Berbagai Hewan Mamalia

Hewan	Lemak	Protein	Laktosa	Mineral	Air
Sapi	4.00	3.50	4,90	0.70	86.90
Kerbau	12.40	6.03	3.74	0.89	86.09
Domba	6.18	5.15	4.17	0.93	83.57
Kambing	4.09	3.71	4.20	0.78	87.32
Kuda	1.59	2.69	6.14	0.51	89.04
Manusia	3.70	1.63	6.98	0.21	87.43

Sumber : (Rahzarni, 2003)

Tabel 2. Komposisi Kimia Susu Kerbau, Sapi dan Kambing di Sumatera Barat(%)

Jenis Susu	Kadar Air	Kadar Protein	Kadar Lemak	Laktosa	Total solid
Susu kerbau	78,91	6,77	7,25	5,28	19,31
Susu sapi	80,82	3,71	5,21	4,34	13,26
Susu kambing	82,21	4,39	6,41	4,58	15,64

Sumber: Melia *et al.*, 2017

Berdasarkan hasil penelitian Melia *et al.*, (2017) terlihat bahwa adanya variasi komposisi kimia susu kerbau, sapi dan kambing yang diperoleh dari berbagai daerah di Propinsi Sumatera Barat. Hal ini di pengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah spesies ternak, pakan ternak, metode pemeliharaan dan kesehatan ternak itu sendiri. Perbedaan komposisi kimia susu dapat dilihat dari kadar air, protein, lemak laktosa dan total solid. Bila di tinjau dari total solid, maka susu kerbau memiliki total solid tertinggi. Potensi ini dimanfaatkan oleh peternak di Sumatera Barat untuk mengolah susu kerbau menjadi dadiah sehingga diperoleh dadiah berkualitas yang tinggi dengan tekstur yang kental.

1.4 STANDAR MUTU SUSU

Tabel 3. Syarat Mutu Susu Segar Berdasarkan SNI No: 01-3141-2011

No	Karakteristik	Satuan	Syarat
1	Berat Jenis (pada suhu 27,5 ^o C) minimum	g/ml	1.0270
2	Kadar lemak minimum	%	3.0

3	Kadar bahan kering tanpa lemak minimum	%	7.8
4	Kadar protein minimum	%	2.8
5	Warna, bau, rasa, kekentalan	-	Tidak ada perubahan
6	Derajat asam	^o SH	6.0-7.5
7	Ph	-	6.3-6.8
8	Uji Alkohol (70%) v/v	-	Negatif
9	Cemaran mikroba maksimum		
	A Total Plate Count	CFU/ml	1 x 10 ⁶
	B Staphylococcus aureus	CFU/ml	1 x 10 ²
	C Enterobacteriaceae	CFU/ml	1 x 10 ³
13	Jumlah sel somatik maksimum	Sel/ml	4 x 10 ⁵
14	Residu Antibiotik (golongan penisilin, tetrasiklin, Aminoglikosida, makrolida)	-	Negatif
15	Uji Pemalsuan	-	Negatif
16	Titik beku	^o C	-0.520 s.d -0.560
17	Uji peroksidase	-	Positif
18	Cemaran Logam Berat maksimum		
	A Timbal (Pb)	µg/ml	0.02
	B Merkuri (Hg)	µg/ml	0.03
	C Arsen (As)	µg/ml	0.1

Sumber: Badan Standardisasi Nasional Susu Segar (2011)

PERTANYAAN

1. Jelaskan definisi susu menurut berbagai referensi.
2. Faktor apa saja yang menentukan sifat fisik dan kimia susu.
3. Mengapa terjadi perbedaan karakteristik susu pada berbagai spesies ternak

DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang, S.N. 2009. Susu dan Teknologi. Swagati Press, Cirebon
- Attaie, R and R. L. Richter. 2000. Size distribution of fat globules in goat milk. *Journal Dairy Science* 83:940-944.
- Badan Standardisasi Nasional. 2011. SNI 01-3141.1:2011: Susu Segar. Standar Nasional Indonesia. Jakarta.

- Chandan, R.C. 2007. Milk composition, physical and processing characteristics. In: YH Hui (Ed), R. C Chandan, S. Clak, N. Cross and J. Dobbs. Handbook of Food Product Manufacturing. John Wiley and Interscience Publisher, New York.
- Fitriyanto, Triana Y. A, Sri U. 2013. Study of Viscosity and Density of Milk Peranakan Etawa (Pe) at the Beginning, Peak and End of Lactation Periods. *Jurnal Ilmiah Peternakan* Vol.1 No.1:299-306.
- Fox, P. F. 2003. Milk. (Ed) Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press, New York
- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W., 2006. Sheep milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), Handbook of Milk of Non-bovine Mammals. Blackwell Publishing Professional, Oxford, England, pp. 137–194.
- Hariono, B., Sutrisno., Kudang B.S., Rarah, R.A.M. 2011. Uji sifat fisika dan kimia susu sapi dan susu kambing yang dipapar dengan ultraviolet sistem sirkulasi. Prosiding Seminar Nasional Perteta. Kajian Teknik Pasca Panen dan Proses Hasil Pertanian. Jember.
- Lingathurai, S, Vellathurai, P, Vendan, S. E, and Anand, A. A. P. 2009. A comparative study on the microbiological and chemical composition of cow milk from different locations in Madurai, Tamil Nadu. *Indian Journal of Science and Technology*. Vol.2 No 2.
- Mehaia, M.A., 1974. A comparative study of milk of different dairy animals. Some physical properties. M.Sc. Thesis. Alexandria University, Egypt.
- Ramadhan BG, Suprayogi TH, Sutiyah A. 2013. Tampilan Produksi Susu dan Kadar lemak Susu Kambing Peranakan Ettawa Akibat Pemberian Pakan dengan Imbangan Hijauan dan Konsentraat yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*. Vol.2 No.1: 353 361.
- Saleh, E. 2004. Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. Digitized by USU digital library. Program Studi Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara
- Sawitri, M., E. A. Manab, M. C. Padaga, T. E. Susilorini. U. Wisaptiningsih dan Ghozi. 2010. Kajian kualitas susu pasteurisasi yang diproduksi U.D. Gading Mas selama penyimpanan dalam refrigerator. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* Vol. 5 No. 2 :28-32
- Soeparno, R.A. Rihastuti, Indratiningsih, S. Triatmojo. 2011. Dasar Teknologi Hasil Ternak. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Suardana, I. W dan I. B. N. Swacita. 2009. Higiene Makanan Kajian Teori dan Prinsip Dasar. Udayana University Press, Denpasar

- Suryowardojo. P. 2012. Penampilan Kandungan Protein Dan Kadar Lemak Susu Pada Sapi Perah Mastitis Friesian Holstein J.Exp. Life Sci. Vol. 2 No. 1: 42-48
- Siregar, S.B. 1992. Sistem pemberian pakan dalam upaya meningkatkan produksi susu sapi perah. *Wartazoa* 3-4 (2): 23-27.
- Syam, S. J. 2006. Daya Tahan Susu Pasterurisasi dalam Suhu Kamar. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Wardani, P. M. I., Sumardi., Bagus H. M. 2013. Effect of Aloe Vera addition (*Aloevera sp*) on Physical and Chemical Properties of Fresh Cow Milk and Soy Milk. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. 1 No. 1.
- Walstra, P., G.T.J. Noomen, A. Jellema, and M.A.J.S. van Boekel. 1999. Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Process. Marcel Dekker Inc., New York.
- Wendt, K., K.H. Lottheimer, K. Fehlings, and M. Spohr. 1998. Handbuch Mastitis Kamlage Veriage. GmbH and Co., 49082 Osnabruck.
- Yusuf R.2010. Kandungan protein susu sapi perah friesian holstein akibat pemberian pakan yang mengandung tepung katu (*Sauropus androgynus (l.) merr*) yang berbeda. *Jurnal. Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 6 No. 1: 1-6.

sample andalas university press (percetakan unand)

BAB II MIKROBIOLOGI SUSU

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa dapat menjelaskan jenis-jenis mikroorganisme yang mengkontaminasi susu.
2. Mahasiswa dapat menjelaskan dan memahami tahapan proses pemerahan.
3. Mahasiswa dapat menyebutkan klasifikasi pasteurisasi dan sterilisasi.

Susu merupakan pangan asal hewan yang diminati oleh manusia, anak hewan dan mikroorganisme. Susu yang keluar dari ambung selalu mengandung sejumlah mikroorganisme. Kualitas susu sangat dipengaruhi oleh mikroorganisme dalam susu. Mikroorganisme patogen dalam jumlah banyak dan jenis – jenis tertentu yang terdapat di dalam susu dapat menyebabkan penyakit terutama penyakit pada pencernaan. Mutu produk dan daya simpan juga dipengaruhi oleh mikroorganisme yang berada dalam susu.

Adapun faktor yang mempengaruhi kualitas susu setelah pemerahan adalah kondisi lingkungan tempat pemerahan susu dan penyakit yang dibawa oleh ternak seperti mastitis. Kualitas susu dari kandang peternak akan mempengaruhi kualitas produk olahan susu. Kerusakan pada susu dapat mempengaruhi kandungan gizinya. Perlu adanya standar kualitas susu yang layak dan aman untuk dikonsumsi. Standar tersebut harus dipenuhi sebelum susu dipasarkan dengan dilakukan pemeriksaan kualitas terlebih dulu. Batasan jumlah mikroorganisme dalam susu diperjelas lagi dalam persyaratan mutu BMCM (Batas Maksimum Cemaran Mikroba) pada susu yang dikeluarkan Badan Standarisasi Nasional (2000) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persyaratan mutu Batas Maksimum Cemaran Mikroba pada Susu

No	Jenis Cemaran Mikroba	Batas maksimum cemaran mikroba (CFU/gr atau CFU/ml)			
		Susu Segar	Susu Pasteurisasi	Susu Bubuk	Susu Steril/UHT
1	<i>Total plate count</i>	1×10^6	$<3 \times 10^4$	5×10^4	$<10/0.1$
2	<i>Coliform</i>	2×10^1	$<0.1 \times 10^1$	0	0
3	<i>Escherichia coli</i> (*)	0	0	0	0
4	Enterococci	1×10^2	1×10^2	1×10^1	0
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^2	1×10^1	1×10^1	0
6	<i>Clostridium</i> sp.	0	0	0	0
7	<i>Salmonella</i> sp. (**)	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
8	<i>Camphylobacter</i> sp.	0	0	0	0
9	<i>Listeria</i> sp.	0	0	0	0

(*) : dalam satuan MPN/gram atau MPN/ml (**): dalam satuan kualitatif

Susu segar mengandung bakteri baik yang dapat mempertahankan kualitas susu pada susu ruang beberapa saat setelah pemerahan. Susu segar juga berpotensi sebagai penghasil bakteri probiotik yang memiliki peranan sangat penting untuk kesehatan. Sharma *et al.*, (2013) melaporkan bahwa bakteri asam laktat mampu memproduksi asam laktat yang diisolasi dari susu yang ada di India. Melia *et al.*, (2017) menemukan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik yang diisolasi dari susu berbagai ternak ruminansia. Berdasarkan standar nasional indonesia (SNI) syarat mikroorganisme dalam susu yang diizinkan maksimal 10^6 CFU/ml. Jumlah mikroorganisme yang tumbuh merupakan gambaran populasi mikroorganisme yang terdapat dalam susu. Berikut ini TPC pada susu segar yang berada di daerah Sumatera Barat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Total Koloni Bakteri Aerob

Sampel	TPC ($\times 10^5$)
Susu kerbau	$296 \pm 16,63$
Susu sapi	$33 \pm 11,61$
Susu kambing	$116,5 \pm 7,73$

Sumber: Melia *et al.*, 2017

Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa susu yang berada di Sumatera Barat secara umum melebihi batas ambang TPC yang telah ditetapkan oleh SNI. Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 01-3141-1998 tentang Syarat Mutu Susu segar dan SNI No. 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. Dalam SNI tersebut disyaratkan bahwa cemaran bakteri atau mikroba maksimum untuk total bakteri (Total Plate Count/TPC) (1×10^6 CFU/ml).

Tingginya TPC susu yang diperoleh di Sumatera Barat diduga disebabkan karena peternak masih menggunakan peralatan dan proses pemerahan serta penanganan susu secara manual. Kandang peternakan yang masih semi permanen dengan tempat pembuangan kotoran yang dekat dengan tempat pemerahan serta tidak adanya tempat pemerahan khusus menyebabkan mudahnya bakteri dari feses mengkontaminasi susu. Peralatan pemerahan yang kurang bersih juga merupakan salah satu penyebab tingginya TPC pada susu yang berada di Sumatera Barat. Selama penelitian bahwa pemerahan biasanya dilakukan di kandang terbuka, yang sering menjadikontaminasi dengan lumpur, sapi dan urine. Banyak alat biasanya mengelilingi wadah susu selama pemerah susu dan itu umum terdapat partikel kotoran, kotoran sapi dan beberapa alat susu selama dan setelah pengumpulan. Hal ini sesuai dengan pendapat Donkor et al. (2007), Kebersihan yang buruk dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kontaminasi susu dari kebersihan yang buruk pada hanya lingkungan pemerahan di peternakan, tetapi termasuk praktek higienis pedagang susu di luar peternakan

Guessas dan Kihal (2004) dalam penelitiannya pada susu kambing mentah di Algerian juga menemukan 206 strain bakteri asam laktat dengan 115 isolat berbentuk coccus dengan genus *Lactobacillus*. Persentase bakteri diantaranya *Lactococcus* sp. (76.16%), *Streptococcus hermophilus* (14.78%) and *Leuconostoc* sp. (8.6%). Dengan spesies dominan yaitu *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. Berikut ini spesies *Lactobacilli* dari susu kambing mentah *Lb. curvatus* (25.25%), *Lb. helveticus* (10.98%), *Lb. plantarum* (9.89%), *Lb. Reuteri* (9.89%), *Lb. casei* (7.69%), *Lb. brevis* (5.49%), *Lb. bulgaricus* (5.49%) *Lb. paracasei* (4.39%) and *Lb. acidophilus* (2.19%).

2.1 JENIS – JENIS MIKROORGANISME YANG MENCEMARI SUSU

Mikroorganisme yang sering terdapat dalam susu sapi murni meliputi *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* serta *Escherichia coli*. Mikroorganisme tersebut dapat menjadi faktor kerusakan susu

dan dapat menimbulkan penyakit radang ambing yang biasa disebut mastitis. Salah satu penyebab penyakit mastitis yaitu *Mycoplasma*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Coliform*, dan *Streptococcus uberis*. Lebih dari 90 – 95 % mastitis disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* dan *Coliform*. Menurut Lukman *et al.* (2009) susu yang keluar dari ambing selalu mengandung sejumlah mikroorganisme. Pencemaran dapat berasal dari ambing sendiri atau masuk melalui puting susu. Jumlah mikroba bertambah dengan adanya pencemaran dari tangan dan baju pemerah. Selain itu dapat melalui alat perah, lingkungan seperti kandang, sapi, dan peralatan lain. Sumber kontaminasi juga dapat berasal dari ternak yang menderita radang ambing yang tidak tampak (mastitis subklinis) yang disebabkan oleh infeksi beberapa macam bakteri patogenik, seperti *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. bovis*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacterium sp.*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Mellenberger, 1997). Cempirkova (2006) menyebutkan bahwa 64% mikroorganisme dalam susu berasal dari *hygiene* yang buruk, 28% oleh temperatur yang rendah (bakteri psikotrofik) dan penyimpanan yang tidak baik, serta 8% oleh mastitis.

Cahyono *et al.*, (2013) dalam penelitiannya melaporkan bahwa kualitas mikrobiologis susu segar di Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo mempunyai rata-rata TPC $7,4 \times 10^5$ cfu/ml, jumlah cemaran *Enterobacteriaceae* $7,5 \times 10^2$ cfu/ml dan cemaran *Staphylococcus aureus* $7,9 \times 10^1$ cfu/ml. Kualitas susu segar pada tingkat peternak di Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo layak dikonsumsi karena masih memenuhi standar SNI 3141.1- 2011 tentang kualitas susu segar ditinjau dari kualitas mikrobiologis.

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berdiameter 1 μm , dan memiliki penampakan di mikroskop seperti anggur. Bakteri ini bersifat non-motil dan memiliki koloni berwarna kuning keemasan. Dinding sel *Staphylococcus aureus* terdiri dari tiga komponen yaitu peptidoglikan, asam teichoat dan protein A. *Staphylococcus aureus* bersifat aerob atau anaerob fakultatif serta memiliki metabolisme melalui respirasi atau fermentasi. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat katalase positif dan mampu memproses sebagian besar karbohidrat. *Staphylococcus aureus* digolongkan sebagai mikroorganisme mesofilik. Mikroorganisme yang tergolong mesofilik adalah mikroorganisme

yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan pada temperatur 37-40 °C. Selain itu, *Staphylococcus aureus* mampu tumbuh pada Aw 0.83, pH 4.5-9.3, dengan pH optimum 7.0-7.5 (Bennett 2005). Bentuk koloni *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Biakan *Staphylococcus aureus* dalam media *Vogel Johnson agar*

Sumber: Hutagaol, (2013)

Staphylococcus aureus menghasilkan enterotoksin yang tahan panas yang memiliki ketahanan panas melebihi sel vegetatifnya. Enterotoksin dilepaskan ke dalam makanan selama bakteri tumbuh dan memperbanyak diri dalam makanan (Jay *et al.* 2005). Walaupun bakteri ini mudah mati dengan pemanasan suhu 66°C selama 10 menit, enterotoksin tersebut masih dapat bertahan pada suhu 100°C selama 30 menit. Aktivitas enterotoksin *Staphylococcus aureus* pada sel epitel usus bersifat *cytotoxic*, yaitu tidak menyebabkan kerusakan pada membran sel tetapi menyebabkan peningkatan pembentukan *messenger intraseluler* yang dapat meningkatkan sekresi dan menyebabkan diare.

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan radang ambing (mastitis) pada sapi perah. Sehingga apabila sapi yang menderita radang ambing susunya tetap diperah maka dalam susu akan terdapat bakteri *Staphylococcus aureus*. Beberapa penyebab mastitis diantaranya luka termis, zat kimia, luka mekanis akibat pemerahan yang tidak tepat atau akibat ternak tersebut sehingga menyebabkan berkembangnya mikroorganisme patogen penyebab mastitis (Saleh, 2004).

Menurut (Hidayat *et al.*, 2006) jika dilihat dari gejala yang muncul maka dapat dilihat perbedaan mastitis klinis dan mastitis subklinis.

Mastitis klinis meliputi :

1. Mastitis akut, gejala yang dapat dilihat terjadi pembengkakan pada ambing, jika diraba terasa panas, terlihat kemerahan dan palatabilitas menurun. Perubahan juga terjadi pada air susu yaitu menjadi lebih encer dan terlihat lebih bening, pada beberapa kondisi air susu kental dan mengumpal. Warna air susu mengalami perubahan menjadi kehijauan, coklat, kemerahan dan pada beberapa kondisi terlihat bercak darah.
2. Mastitis Kronis, gejala umum ternak masih terlihat sehat, jika diraba ambing terasa keras.

Mastitis sub klinis adalah peradangan pada ambing yang gejalanya tidak terlihat pada ambing maupun air susu, berikut tanda mastitis subklinis:

1. Ternak terlihat seperti sehat
2. Suhu, bentuk dan ukuran ambing normal
3. Tidak ada terjadi perubahan pada susu

Menurut Soriano *et al.* (2002), manusia merupakan salah satu pembawa utama bakteri *Staphylococcus aureus* karena bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan yang hangat dan basah seperti membran hidung manusia. Karena itu, kontaminasi *Staphylococcus aureus* pada sampel susu dapat berasal dari pekerja melalui saluran pernapasan dan kulit manusia.

2. Koliform

Koliform merupakan suatu grup bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, berbentuk batang dan termasuk famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri koliform dapat tumbuh pada media aerobik dan anaerobik fakultatif, serta dapat memfermentasi laktosa pada suhu 37°C dalam waktu 48 jam. Koliform memiliki enzim *galaktosidase* dan bersifat oksidase negatif. Koliform termasuk kelompok bakteri psikotrofik yang mengalami pertumbuhan minimum pada suhu -10 °C, optimum pada suhu 20-30 °C, dan maksimum pada suhu 42 °C. Menurut Sperling (2007), koliform dapat ditemukan di dalam air bersih dan

air yang telah terkontaminasi, tanah dan tumbuhan, maupun di dalam feses manusia dan hewan berdarah panas (mamalia dan burung). Oleh karena itu, bakteri koliform tidak hanya ditemukan pada saluran pencernaan (koliform fekal), tetapi dapat juga ditemukan pada tanah dan tumbuhan (koliform non fekal). Biakan koliform pada media *violet red bile agar* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Biakan koliform pada media *violet red bile agar*

Sumber: Hutagaol, (2013)

Koliform termasuk bakteri yang dapat mengubah karbohidrat melalui proses glikolisis. Proses yang tidak mengharuskan adanya oksigen ini merupakan proses perombakan karbohidrat menjadi asam piruvat yang akan diubah lagi menjadi asam laktat melalui fermentasi. Terbentuknya asam laktat tersebut menyebabkan turunnya pH sehingga susu menjadi asam dan menurunkan kualitas susu. Termasuk bakteri koliform antara lain: *Escherichia coli*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Arizona*, *Providentia*, dan *Pseudomonas*.

Escherichia coli merupakan *flora* normal yang ada di saluran pencernaan ternak dan manusia. Strain *Escherichia coli* yang bersifat patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan *foodborne disease* seperti O157:H7 yang menghasilkan *shiga toxin*. *Escherichia coli* merupakan salah satu mikroorganisme yang menginfeksi susu. Susu segar sangat mudah terkontaminasi oleh *Escherichia coli*, hal ini karena sebagian besar peternak kurang memperhatikan kebersihan sanitasi dan hygiene personal.

Menurut Manning (2010), air yang terkontaminasi koliform merupakan sumber pencemaran yang paling penting di sebuah

peternakan karena bakteri ini dapat bertahan hidup dalam sedimen air selama enam bulan, bahkan dapat bertahan hidup sepanjang musim dingin. Menurut Effendi (2003), kadar koliform maksimal pada air yang digunakan untuk usaha peternakan adalah 1 cfu/ml atau dapat dilakukan klorinasi dengan konsentrasi 50 ppm bila jumlah koliform melebihi batas tersebut. Altalhi dan Hassan (2009) menambahkan faktor lain yang dapat menimbulkan kontaminasi koliform pada susu yaitu kesalahan dalam pemerahan. Penyimpanan susu yang tidak menggunakan rantai dingin juga dapat meningkatkan jumlah koliform selama dalam kendaraan penampung susu.

3. *Listeria monocytogenes*

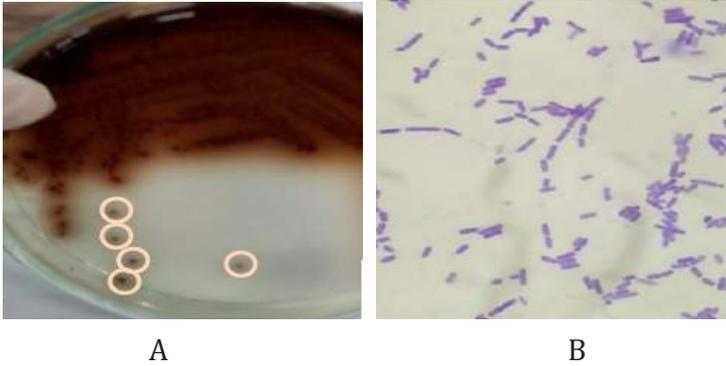
Listeria monocytogenes merupakan bakteri batang Gram-positif, berukuran diameter 0.5 μm dan panjang 1– 2 μm , tidak membentuk spora, sertafakultatif anaerob yang hidup pada suhu -4 sampai dengan 50°C. Bakteri ini bersifat katalase positif, oksidase negatif, H₂S negatif, dan menghasilkan β -hemolysin yang membentuk zona bening pada agar darah. *Listeria monocytogenes* membentuk reaksi *Christie, Atkins, and Munch-Petersen* (CAMP) dengan hemolisin dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini bersifat motil bila ditumbuhkan pada suhu 20–25°C dengan adanya pertumbuhan flagela peritrikus. Flagela tersebut tidak terbentuk bila bakteri ditumbuhkan pada suhu tubuh 35–37°C (Gyles et al., 2010).

Infeksi *Listeria monocytogenes* yang bersifat invasif menyebabkan penyakit *listeriosis*. Terdapat dua bentuk gejala klinis yang diakibatkan oleh infeksi *Listeria monocytogenes* yaitu listerial gastroenteritis/gastrointestinal illness (bentuk saluran pencernaan) dan invasive listeriosis (bentuk invasif). Pada listerial gastroenteritis, gejala klinis ditandai dengan mual, muntah, kram perut dan diare yang akan tampak setelah tertelannya bakteri selama lebih dari 12 jam pada individu dengan kondisi respon imun sel T tidak cukup, bakteri *Listeria monocytogenes* yang mencapai hati dan limpa akan segera bermultiplikasi di dalam hepatosit dan sel makrofag, kemudian dibawa oleh darah menuju ke berbagai organ termasuk otak dan uterus. Pada kedua organ tersebut, *Listeria monocytogenes* mampu melakukan penetrasi terhadap *blood-brain barrier* dan *placental barrier*. Beberapa kondisi individu yang dapat mengalami gangguan respon sistem imun yaitu usia lanjut, wanita hamil, janin dan bayi baru lahir, pasien gangguan ginjal, penderita diabetes mellitus, serta individu yang menderita HIV-AIDS.

Listeria monocytogenes dapat ditemukan pada lingkungan, seperti debu, tanah, air laut dan tawar, tanaman, hewan liar dan domestik, makanan hewan termasuk silase, limbah rumah potong hewan, selokan dan sedikit ditemukan pada feses (Donnelly 2001). *Listeria monocytogenes* juga ditemukan pada buah-buahan, susu mentah, keju, daging, produk daging, *hot dog* yang tidak dimasak, ikan, rennet, daging unggas, ayam masak yang disimpan pada suhu dingin, ayam masak siap saji, susu pasteurisasi dan produk susu lainnya.

Hewan ternak yang terinfeksi *L. monocytogenes* dapat melepaskan *L. monocytogenes* melalui susu dan fesesnya. Donnelly (2001), melaporkan adanya pelepasan sel *L. monocytogenes* yang tinggi pada susu yang dihasilkan oleh sapi dan domba terinfeksi tanpa disertai gejala klinis. Forsythe dan Hayes (1998) melaporkan bahwa sel *L. monocytogenes* masih dapat ditemukan pada susu pasteurisasi dengan suhu 72°C selama 15 detik di hari kedua masa penyimpanan dalam suhu 4°C. Pertumbuhan sel semakin meningkat setiap hari hingga 2500 sel per ml pada hari kelima.

Prahesti (2016) dalam penelitiannya menemukan Bakteri *L. Monocytogenes* yang diisolasi dari contoh susu sapi segar yang diperoleh dari Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Ditemukan yaitu sebanyak 21 isolat dari 31 yang diisolasi diidentifikasi sebagai *L. Monocytogenes*. Usaha ternak di Kabupaten Enrekang masih dilaksanakan secara tradisional. Pemeliharaan sapi umumnya dilakukan sendiri oleh pemilik ternak tanpa bantuan tenaga kerja tambahan. Proses pemerahan susu juga masih dilakukan secara manual, yaitu susu segar ditampung dalam wadah berupa ember ataupun wadah penampung dari kaleng, untuk langsung diolah menjadi produk lain. Kondisi kandang pada umumnya juga kurang bersih. Saluran pembuangan feces dan urin ternak masih buruk, demikian pula dengan tempat penyimpanan pakan ternak dan air minum Kondisi manajemen peternakan yang masih kurang bagus merupakan sumber transmisi *L. monocytogenes* ke hewan ternak.



Gambar 3. Koloni yang diduga *L. Monocytogenes* pada media Listeria Selctive Agar (a) dan Hasil pewarnaan gram bakteri *L. Monocytogenes* (Prahesti, 2016)

4. *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae (*S. agalactiae*) atau dikenal sebagai *Group B Streptococcus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk bulat serta memiliki kecenderungan untuk membentuk rantai. *S. agalactiae* memiliki beberapa karakteristik yaitu membentuk hemolisis beta, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan memiliki kapsul yang terbuat dari polisakarida (*exopolysacharide*) (Ryan dan Ray 2004). Faktor patogenitas yang penting dari *S. agalactiae* adalah keberadaan kapsul polisakarida dan kemampuan dalam membentuk hemolisis beta. *S. agalactiae* menjadi salah satu penyebab utama dalam kasus mastitis subklinis dan merupakan parasit obligat pada ambing (Wahyuni *et al.* 2006).

S. agalactiae membentuk daerah hemolisis yang hanya sedikit lebih besar dari koloninya. *S. agalactiae* dapat menghidrolisis natrium hipurat dan memberi respon positif pada tes *Christie, Atkins, Munch-Peterson* (CAMP), oleh karena itulah *S. agalactiae* biasa diidentifikasi dengan tes CAMP. Strain *S. agalactiae* meningkatkan aktivitas hemolisis pada Stafilokokal β -toksin membentuk tanda seperti anak panah pada reaksi CAMP. *Staphylococcus* yang umum digunakan adalah *S. aureus* (Songer dan Post 2005).

S. agalactiae merupakan bakteri patogen yang biasa terdapat pada mukosa orofaring manusia, sehingga bakteri tersebut dapat masuk ke dalam ambing melalui pemerah yang tidak menjaga hygiene personal. Kepadatan kandang yang tinggi dan sanitasi yang buruk pada alat yang digunakan untuk proses pemerahan dapat mempercepat proses penularan *S. agalactiae* pada sapi-sapi yang lain. *S. agalactiae* merupakan bakteri yang kurang memberikan respon terhadap terapi

antibiotik, namun di Amerika Serikat biasanya dilakukan terapi antibiotik intramamari dengan Amoksisilin, Penisilin, dan Eritromisin pada kasus mastitis yang disebabkan oleh *S. Agalactiae*. Efektivitas terapi antibiotik akan semakin menurun apabila tidak didukung oleh manajemen pemeliharaan yang baik dan benar.

2.2 TEKNIK PEMERAHAN DAN PENANGANAN SUSU

Susu yang baru diperah bersifat higienis, bernilai gizi tinggi, dan mengandung sedikit mikroba (yang berasal dari ambing). Susu mempunyai cita rasa yang khas yang berasal dari komposisi gizi yang dikandungnya. Namun, jika tidak dilakukan penanganan dengan baik setelah proses pemerahan, maka susu dapat mengalami penurunan kualitas sehingga bisa menyebabkan perubahan komposisi fisik, kimia maupun mikrobiologi.

Menurut IDF/FAO (2004) susu harus diperah dan disimpan dalam kondisi yang higienis. Peralatan yang digunakan untuk pemerah susu harus tersedia dan dirawat dengan baik. Pemerahan adalah aktivitas yang terpenting dalam peternakan sapi perah. Konsumen menuntut standar kualitas yang tinggi, sehingga tujuan manajemen pemerahan adalah untuk meminimalisasi kontaminasi fisik, kimia dan mikrobiologi. Manajemen pemerahan hendaknya meliputi semua aspek dari proses pemerahan secara cepat dan efektif sekaligus memastikan kesehatan sapi dan kualitas dari susunya. Konsistensi pelaksanaan prosedur pemerahan yang baik adalah bagian yang penting dalam pelaksanaan *Good Agricultural Practices* (GAP) untuk pemerahan. *Good Agricultural Practices* merupakan petunjuk penting beserta deskripsinya untuk memastikan pemerahan dan penyimpanan susu dilakukan dalam kondisi yang higienis, dan peralatan yang digunakan dalam pemerahan dan penyimpanan susu harus dalam kondisi yang terawat baik.

Menurut Direktorat Penanganan Pasca Panen Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian (2006), penanganan pasca panen pada produk susu perlu mendapatkan perhatian yang lebih serius karena susu mudah terkontaminasi oleh bau dan bakteri yang dapat menurunkan kualitasnya. Beberapa hal yang perlu diperhatikan untuk memperoleh susu dengan kualitas baik diantaranya:

- 1) Pemeliharaan kesehatan ternak agar selalu sehat dengan memberikan pakan yang bergizi dan sesuai dengan kebutuhan ternak, serta melakukan pemeriksaan kesehatan ternak secara rutin;

- 2) Pekerja yang menangani ternak dan pemerahan harus dalam kondisi yang sehat, menjaga diri agar tidak melakukan kebiasaan menggaruk, batuk, merokok ataupun bersin untuk menghindarkan kontaminasi padasusu;
- 3) Upaya menjaga lingkungan lingkungan agar selalu bersih sangat dianjurkan agar dapat mencegah bahaya pencemaran susu pada saat pemerahan;
- 4) Pemerahan dilakukan di tempat yang bersih, peralatan yang higienis dan kebersihan ternak, serta dengan metode yang tepat;
- 5) Penyimpanan susu pada suhu dibawah 3-4 °C dilakukan secepat mungkin agar bakteri tidak berkembang biak;
- 6) Pengujian kualitas susu
- 7) Pencucian serta sanitasi semua peralatan untuk penanganan susu setelah digunakan.

Peraturan Menteri Pertanian No 55/Permentan/OT.140/10/2006 tentang pedoman pembibitan sapi perah yang baik, peralatan dalam ternak sapi perah meliputi tempat pakan dan tempat minum; alat pemotong dan pengangkut rumput; alat pembersih kandang dan pembuatan kompos; peralatan kesehatan hewan; peralatan pemerahan dan pengolahan susu; peralatan sanitasi kebersihan; dan peralatan pengolahan limbah. Peralatan pemerahan dalam pedoman pembibitan sapi perah, perlu dijaga dan dibersihkan, guna meminimalisir kontaminasi mikroorganisme.

2.3 TAHAPAN PEMERAHAN (Usmiati dan Abu bakar, 2009)

1. PERSIAPAN KANDANG

Kandang merupakan bangunan sebagai tempat tinggal ternak yang ditujukan untuk melindungi ternak terhadap gangguan luar seperti terik matahari, hujan, angin, dan gangguan binatang lain, serta untuk memudahkan dalam pengelolaan (Ernawati *et al.* 2000). Susu merupakan bahan pangan yang mudah terkontaminasi dari lingkungan. Kebersihan kandang perlu diperhatikan karena selain untuk kenyamanan ternak juga merupakan faktor penentu kualitas susu. Kandang harus bersih dan secara rutin dibersihkan dari kotoran (terutama feses dan air seni) karena merupakan sumber kontaminan mikroba dan bau. Oleh karena itu ketersediaan air yang bersih dan melimpah merupakan syarat mutlak yang harus dipenuhi. Sebaiknya

terdapat kandang khusus untuk proses pemerahan atau tersedia sistem pemerahan yang higienis dalam kandang. Jika tempat ini tidak tersedia maka pemerahan dapat dilakukan dikandang biasa dengan harus memperhatikan kebersihannya.

2. KEBERSIHAN PEMERAH

Kebersihan menjadi persyaratan utama bagi pemerah untuk mendapatkan susu dengan kualitas yang baik. Kebersihan meliputi pakaian pemerah, tangan dan anggota tubuh lainnya. Sangat disarankan pemerah menggunakan baju berwarna putih selama aktifitas pemerah susu. Hal yang sangat penting adalah pemerah harus bebas dari penyakit menular. Untuk memastikan pemerah terbebas dari penyakit terlebih dulu harus melakukan pemeriksaan kesehatan dan kemudian setiap enam bulan atau satu tahun sekali cek kesehatan kembali.

Tangan pemerah merupakan salah satu sumber kontaminasi mikroorganisme dalam susu, dengan ditemukannya mikroorganisme patogen seperti *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*). Kuku mengandung mikroorganisme patogen hingga 10^7 cfu/cm². *S. aureus* dapat ditemukan pada permukaan kulit yang lembab sebesar 10^3 – 10^6 cfu/cm². (Handayani dan Purwanti 2010). Pencemaran *E. coli* dapat berasal dari air di peternakan yang digunakan untuk mencuci tangan atau kebersihan pekerja setelah buang air besar tidak mencuci tangan dengan sabun. Mencuci tangan dengan sabun merupakan upaya untuk menekan kontaminasi mikroorganisme dalam susu pada saat pemerahan.

3. PERSIAPAN PERALATAN PEMERAHAN

Peralatan pemerahan susu meliputi ember perah, *milk can* dan peralatan lainnya seperti tempat pakan dan tempat minum harus dijaga kebersihannya dengan beberapa tindakan antara lain peralatan penampung susu setelah dipakai harus segera dibersihkan, selanjutnya dibilas dengan air bersih atau dapat menggunakan deterjen (sabun bubuk) dengan air hangat agar melarutkan lemak susu yang masih melekat. Peralatan penampung susu yang sudah bersih dikeringkan di bawah sinar matahari atau diletakkan terbalik. Pembersihan peralatan pemerahan susu dapat menggunakan desinfektan. Desinfektan didefinisikan sebagai bahan kimia yang digunakan untuk mencegah terjadinya infeksi atau pencemaran jasad renik seperti bakteri dan virus, juga untuk membunuh atau menurunkan jumlah mikroorganisme. Faktor yang mempengaruhi efektivitas desinfektan

adalah konsentrasi, waktu kontak (20–30 menit), tanggal kadaluarsa, karakteristik mikroorganisme dan pH. Peralatan yang digunakan dalam proses pemerahan dapat dilihat pada Gambar 3.

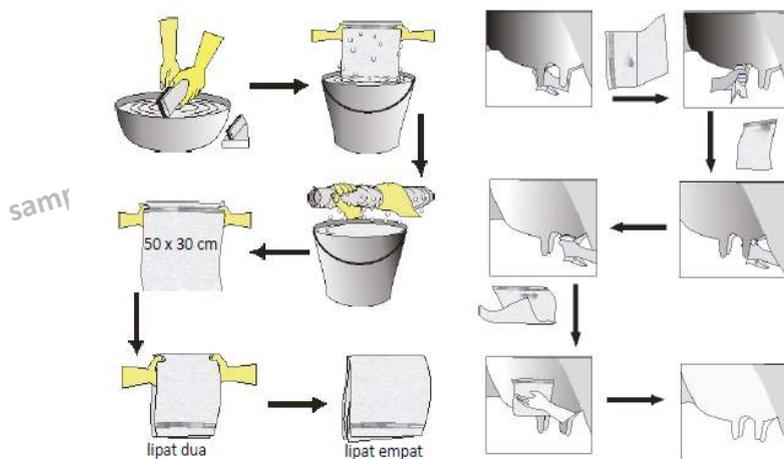


Gambar 4. Peralatan Pemerahan Susu
Sumber: Usmiati dan Abubakar (2009)

4. PERSIAPAN SAPI PERAH

Persiapan sapi perah dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu dimulai dari badan sapi terutama bagian lipatan paha sapi. Kemudian ekor sapi diikat dan bulu disekitar paha digunting agar tidak mencemari susu saat pemerahan. Selain itu dilakukan pembersihan ambing menggunakan air hangat. Hal ini bertujuan untuk menjaga kebersihan susu dari berbagai sumber cemaran.

sample andalas university press (percetakan unand)



Gambar 5. Urutan cara membersihkan puting sapi

Sumber: Usmiati dan Abubakar (2009)

Proses pembersihan ambing dan puting sebelum dan setelah diperah merupakan faktor yang sangat penting untuk menurunkan TPC dalam susu segar hingga 70% dengan cara dicelupkan ke dalam larutan *iodophore* atau larutan antiseptik (Cempirkova, 2006).

5. PEMERAHAN SUSU

Pemerahan yang baik dan benar akan mengurangi jumlah total mikroorganisme dalam susu. Pemerahan yang baik dilakukan dengan memperhatikan beberapa aspek, yaitu pemerahan dilakukan dalam interval yang teratur dan cepat, menggunakan prosedur sanitasi, efisien dalam penggunaan tenaga kerja. Pemerahan dimulai pada kuartir bagian depan sampai habis kemudian pada kedua kuartir bagian belakang (Putra 2009). Wadah tempat susu diletakkan di atas lantai di antara kedua kaki dan membentuk sudut 45° dengan puting susu.

Puting susu diberikan *sanitaiser (teat dipping)*. *Teat dipping* merupakan suatu tindakan yang dilakukan dengan mencelupkan puting sapi ke dalam desinfektan setelah pemerahan berakhir. Hal ini bertujuan untuk mencegah bakteri masuk setelah pemerahan. Perlakuan pencelupan puting akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang masuk melalui lubang puting, dengan cara merusak dinding sel mikroorganisme bagian luar dan membran sel sehingga desinfektan dapat masuk dalam sitoplasma sampai

pada sel mikroorganisme, dengan demikian mikroorganisme tidak dapat berkembang biak hingga perkembangannya terhambat sampai akhirnya mikroorganisme tersebut mati, sehingga kontaminasi susu dapat dicegah sedini mungkin. Terdapat dua metode dalam pemerahan susu, yaitu dilakukan secara manual menggunakan tangan dan diperah menggunakan mesin pemerah susu.

1. Metode pemerahan secara manual dilakukan menggunakan tangan pemerah.

Pemerahan manual ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu menggunakan seluruh jari dan hanya menggunakan dua jari. Kelemahan pemerahan dengan dua jari adalah mudah terjadi perlukaan pada ambung, ambung dan puting selalu basah, dan sumber kontaminasi karena ambung terus bergerak dan tertarik. Keuntungan pemerahan dengan seluruh jari adalah pemerah lebih cepat, puting tidak tertarik, dan puting tidak terlalu basah sehingga kotoran jarang atau sedikit terikut dalam susu (Lukman *et al.* 2009).

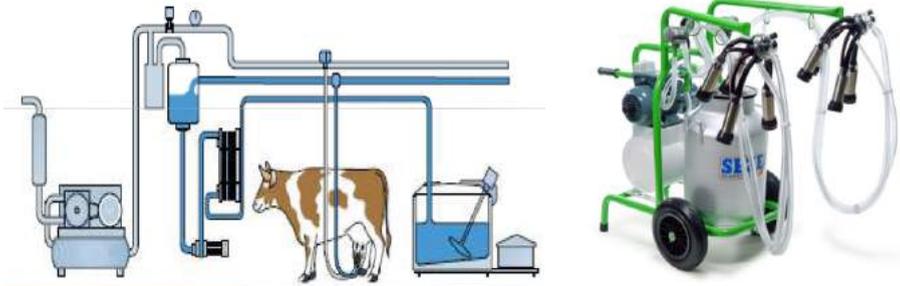


Gambar 6. Pemerahan susu menggunakan tangan

Sumber: <https://kampuspeternakan.blogspot.co.id/2016/12/teknik-pemerahan-susu-dengan-tangan.html>

sample andalas university press (percetakan unand)

2. Pemerahan menggunakan mesin/alat perah



Gambar 7. (a) Pemerahan susu dengan mesin (b) Mesin pemerah susu

Sumber : <http://seafast.ipb.ac.id/publication/presentation/UHT-aseptic-susu-segar.pdf>

Merupakan proses pengeluaran susu dari ambung sapi menggunakan mesin yang dioperasikan secara otomatis. Hasil pemerahan dengan alat perah menghasilkan susu yang relatif steril karena susu langsung terkumpul di wadah penampung susu tanpa kontak dengan udara luar, sehingga mikroba yang ada dalam susu adalah mikroba indigenus.

Cara penanganan susu sesudah pemerahan adalah sebagai berikut (Saleh, 2004)

1. Susu hasil pemerahan harus segera dikeluarkan dari kandang untuk menjaga jangan sampai susu tersebut berbau sapi atau kandang. Keadaan ini penting terutama jika keadaan ventilasi kandang tidak baik.
2. Susu tersebut disaring dengan saringan yang terbuat dari kapas atau kain putih dan bersih, susu tersebut disaring langsung dalam *milk can*. Segera setelah selesai penyaringan *milk can* tersebut ditutup rapat. Kain penyaring harus dicuci bersih dan digodok kemudian dijemur. Bila kain penyaring tersebut hendak dipakai kembali sebaiknya disetrika terlebih dahulu.
3. Tanpa menghiraukan banyaknya kuman yang telah ada, dilakukan pendinginan susu sesudah pemerahan dan penyaringan pada suhu 4°C – 7°C selama 2 sampai 3 jam. Hal ini bertujuan untuk mencegah berkembangbiaknya kuman pada susu. Apabila tidak ada *refrigerator*, maka dapat digunakan *milk can*, yang dimasukkan ke dalam kotak yang telah diisi dengan es.

Peternakan yang tidak memiliki fasilitas pendingin, dapat segera membawa susu ke KUD dalam waktu kurang dari 2,5 jam. Sehingga kerusakan susu dapat dicegah. Bila tidak dapat dilakukan maka dianjurkan menambahkan H₂O₂ (Hidrogen Peroksida) dengan kepekatan 35% sebanyak 2 ml³/²liter susu. Dengan perlakuan ini susu dapat tahan selama 24 jam pada iklim tropis. Apabila susu tidak mendapatkan penanganan, maka susu tidak dapat disimpan lebih dari 12 jam. Berdasarkan uji reduktase, penambahan H₂O₂ 0,06%, susu mampu disimpan hingga 48 jam, jika dilakukan uji alkohol, susu dapat disimpan selama 24 jam. Susu masak dan susu kukus dapat disimpan selama 24 jam berdasarkan uji reduktase dan 12 jam berdasarkan uji alkohol (Ernawati, *et al.*, 1989).

Tahapan pemerahan yang benar akan menghasilkan susu dengan jumlah mikroba yang lebih sedikit. Menurut Ernawati (1991), tata laksana pemerahan tidak berpengaruh terhadap komposisi, keasaman dan pH susu kambing.

6. PENGUMPULAN SUSU DAN TRANSPORTASINYA

Pengumpulan susu dari peternakan dilakukan oleh peternak dengan cara menampung susu dan diangkut menggunakan wadah (*milk can*) serta dikumpulkan pada wadah penampungan yang besar. Selanjutnya susu dibawa ke tempat penampungan yang lebih besar biasanya koperasi susu atau langsung ke pabrik pengolahan susu. Alat-alat penampung susu kemudian dicuci menggunakan air bersih hangat bersuhu sekitar 60-70°C untuk menghilangkan lemak dan membersihkan mikroba yang menempel pada wadah.

Beberapa pabrik susu di luar negeri membersihkan alat-alat pemerahan susu menggunakan larutan klorin dengan konsentrasi 50 ppm, kemudian dibilas air hangat dan dikeringkan. Pada koperasi pengumpul susu, dilakukan penyaringan dan pengujian kualitas susu yaitu kadar lemak, protein, berat jenis (BJ), uji alkohol, bahan kering tanpa lemak (SNF/*Solid Non Fat*) dan total bakteri (*Total Plate Count/TPC*). Susu sangat mudah terkontaminasi mikroorganisme, Hal ini dapat ditunjukkan oleh jumlah koloni aerob yang tinggi, sedangkan susu yang telah dipalsukan dapat dideteksi dengan mengukur nilai BJ (berat jenis) dan pengujian alkohol, tergantung jenis pemasuannya.

Hal yang perlu diperhatikan selama transportasi susu sebelum dibawa ke pabrik pengolahan susu adalah : a). Susu yang telah diperiksa dikumpulkan menggunakan alat pendingin (*Plate Cooler*) atau *glycol* dingin untuk mencapai suhu 4°C serta dilakukan

homogenisasi, kemudian susu dibawa ke pabrik pengolahan susu menggunakan tanki pendingin, yang dilapisi *chilled water jacket* yang mengandung *icebank* untuk mencegah terjadinya perubahan suhu selama transportasi, c). Selama transportasi, sebaiknya menghindari terjadinya guncangan, yang dapat menyebabkan terjadi pembuihan susu sehingga dapat menurunkan kualitasnya.

Penanganan susu yang tidak sesuai SOP (Standar Operasional Produksi) akan memberikan nilai cemaran mikrobiologi yang tinggi seperti dijelaskan dalam penelitian Aryana, (2011) yang diperoleh rata-rata jumlah total mikroorganisme dalam sampel susu kandang sebesar 2.8×10^5 cfu/ml, nilai ini lebih tinggi dari rata-rata jumlah total mikroorganisme dalam sampel susu individu (2.0×10^4 cfu/ml). Rataan jumlah total mikroorganisme dari susu TPS sebesar 1.8×10^6 cfu/ml dan nilai ini sudah melampaui batas cemaran mikroba TPC SNI No. 01-3141-2011. Diartikan bahwa selama rantai distributor susu terjadi peningkatan TPC pada susu. Hal ini disebabkan kebersihan kandang yang kurang, peternak yang tidak bersih mencuci tangan sebelum pemerahan susu, peralatan yang digunakan tidak bersih serta penanganan yang lambat setelah pemerahan.

2.4 PASTEURISASI SUSU

Susu pasteurisasi adalah susu segar, susu rekonstitusi, susu rekombinasi yang telah melalui tahapan proses pemanasan pada suhu 63°C - 66°C selama 30 menit atau pada pemanasan 72°C selama 15 detik, kemudian segera didinginkan hingga 10°C , dan selanjutnya diperlakukan secara aseptis serta disimpan pada suhu $4,4^\circ\text{C}$ (Badan Standardisasi Nasional, 1995).

Keterangan:

- a. Susu segar ialah cairan yang diperoleh dengan cara pemerahan sapi yang sehat dengan cara yang benar, sehat dan bersih tanpa mengurangi atau menambah dengan komponen lainnya.
- b. Susu rekonstitusi merupakan susu yang berasal dari penyatuan kembali bagian-bagian dari susu yang telah dipisahkan.
- c. Susu rekombinasi merupakan susu yang berasal dari kombinasi bahan baku susu rekonstitusi dengan susu segar.

Ada 2 macam cara pasteurisasi yaitu (Usmiati dan Abubakar, 2009)

1. Pasteurisasi lama (*Low Temperature Long Time/LTLT*). Pemanasan susu pada suhu yang tidak tinggi (62-65°C) dengan waktu yang relatif lama (0,5 -1 jam).
2. Pasteurisasi singkat (*High Temperature Short Time/HTST*). Pemanasan susu dilakukan pada suhu tinggi (85-95°C) dengan waktu yang relatif singkat (1-2 menit).

Proses pasteurisasi pada susu pertama kali dilakukan oleh Franz von Soxhlet pada Tahun 1886. Susu pasteurisasi atau dikenal dengan istilah *pasteurized milk* adalah produk susu yang diperoleh dari hasil pemanasan susu pada suhu minimum 161 °F selama minimum 15 detik, segera dikemas pada kondisi yang bersih dan terjaga sanitasinya. Beberapa bakteri akan bertahan pada suhu pasteurisasi, dalam jumlah yang sedikit, namun dipertimbangkan tidak berbahaya dan tidak akan merusak susu selama kondisi pendinginan yang normal.

Menurut Buckle *et al.* (2007), pasteurisasi pada susu dimaksudkan untuk memberikan perlindungan maksimum terhadap susu segar yang kemungkinan membawa bibit penyakit dengan mengurangi seminimal mungkin kehilangan zat gizinya dan mempertahankan semaksimal mungkin rupa dan cita rasa susu segar. Berdasarkan penelitian oleh Abubakar *et al.*, (2001) susu pasteurisasi dengan metode HTST maupun LTLT dapat dikonsumsi sampai umur penyimpanan 15 - 21 jam pada suhu penyimpanan 27,5°C (suhu kamar). Masa simpan susu lebih lama pada pasteurisasi dengan HTST, namun kadar protein lebih tinggi pada pasteurisasi dengan LTLT (suhu 65°C), metode pasteurisasi tidak berpengaruh terhadap kadar lemak dan kadar air susu.

Teknik maupun metode pasteurisasi yang dilakukan menentukan terhadap kandungan nilai gizi dan aroma produk pangan. Salah satu contoh, pada susu HTST dinilai lebih efektif, karena lebih sedikit menimbulkan kerusakan kandungan gizi dan karakteristik sensoris pada susu, dibandingkan dengan LTLT. Selain itu juga dikenal 2 (dua) jenis pasteurisasi lainnya (Budiyono, 2009) yaitu (1) *Ultrapasteurization* : pemanasan susu pada suhu yang tinggi, sampai 280° F (138° C), selama 2 detik, kemudian dengan pertimbangan kemasan yang digunakan umumnya kurang kuat, maka produk susu pasteurisasi ini harus segera didinginkan selama penyimpanan dan (2) *Ultra-High-Temperature (UHT) Pasteurization*: pemanasan susu pada suhu dengan suhu yang lebih tinggi lagi, yaitu kisaran 280°-302°F(138°-150°C), selama 1 sampai 2 detik. Produk susu ini biasanya

dikemas dalam keadaan steril, dengan kemasan berlapis hermetis, dapat disimpan tanpa pendinginan selama masa penyimpanan.

2.5 MASA PENYIMPANAN SUSU PASTEURISASI

Susu pasteurisasi yang beredar di pasaran sangatlah beragam. Hal ini dapat dibedakan berdasarkan metode pasteurisasi yang dilakukan, jenis kemasan, dan waktu penyimpanannya, dan penambahan cita rasa atau *flavor* pada susu pasteurisasi untuk meningkatkan daya tarik konsumen. Pada Tabel 6, dibawah ini dapat dilihat perbandingan metode pasteurisasi dengan berbagai masa simpan yang beragam.

Tabel 6. Perbandingan Jenis Pasteurisasi dengan Perbedaan Daya Simpannya

No	Metode Pasteurisasi	Masa Simpan	Keterangan
1	Hight Temperature Short Time (HTST)	14 hari (alat pendingin).	Masa simpan dibatasi oleh pertumbuhan bakteri <i>psychrotrophic</i> , perubahan aroma (<i>off-flavors</i>) dikarenakan pertumbuhan mikroorganismenya.
2	Penggunaan suhu yang lebih tinggi dari HTST (78°C,16-30 detik)	15 - 25 hari (alat pendingin).	Proses ini dilakukan oleh industri pengolahan susu dengan teknologi pengisian dan kemasan, yang dapat membunuh lebih banyak mikroba, dan mengurangi kontaminasi. Setelah hari ke - 17, pada penyimpanan di lemari es, bakteri gram-positif pembentuk spora ditemukan, bakteri ini penyebab utama pencemaran pada susu.
3	<i>Ultrapasteurization</i> 280° F (138° C), selama 2 detik (tanpa kemasan hermetis)	60-90 hari (<i>refrigerator</i>).	Adanya pertimbangan kemasan yang digunakan umumnya kurang stabil, maka produk susu pasteurisasi ini harus segera didinginkan selama penyimpanan
4	<i>Ultra-High-temperature (UHT) Pasteurization</i> 280°- 302°F (138°-50°C), selama 1-2detik	60-90 hari (<i>refrigerator</i>)	Produk susu ini yang dikemas dalam kondisi steril, dengan kemasan hermetis, dapat disimpan tanpa pendinginan saat penyimpanan.

Sumber: Budiyo, (2009)

Menurut Chapman dan Boor (2001) para produsen susu pasteurisasi berharap dapat memperpanjang daya simpan susu hingga 60-90 hari, bahkan lebih. Sehingga umumnya jenis pasteurisasi yang dilakukan pada industri pengolahan susu adalah *Ultrapasteurization* atau UHT. Namun demikian karena produk susu pasteurisasi yang dilakukannya pada pemanasan yang tinggi maka akan timbul *flavor* gosong yang khas, sehingga beberapa segmen konsumen lebih memilih produk susu pasturisasi HTST. Foreman (2008) menyatakan bahwa daya simpan susu pasteurisasi sangat singkat. Di Amerika Serikat, secara umum daya simpan susu pasteurisasi masih layak untuk diminum dalam rentang 16-18 hari, atau bahkan lebih. Di negara-negara Eropa, daya simpan susu pasteurisasi dalam rentang 10-14 hari. Sedangkan di negara-negara lainnya, daya simpan susu pasteurisasi yang dapat dijamin hanya dalam kisaran 3-5 hari. Daya simpan yang semakin singkat dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan berkualitas rendah.

Pada dasarnya, produk susu pasteurisasi dihasilkan dengan cara pemanasan bahan baku susu dengan suhu dan selama waktu tertentu, kemudian segera didinginkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Namun demikian ada kelompok bakteri yang disebut *thermoduric*, yakni bakteri yang bertahan hidup pada suhu pasteurisasi, demikian juga ada bakteri yang disebut *psychrotrophic* merupakan kontaminan utama pada produk susu, tetap hidup pada susu pendinginan, namun tidak bertahan hidup selama proses pasteurisasi, dan menghasilkan *flavor* yang tidak sedap. Valik *et al.*, (2003) telah meneliti bagaimana salah satu bakteri, yakni *Bacillus cereus*, bakteri pembentuk spora yang mampu bertahan hidup selama proses pasteurisasi, juga bertahan pada suhu pendinginan, dan penghasil *enterotoxin*, yang menjadi penyebab keracunan pangan, dapat berkembang biak pada susu pasteurisasi selama masa penyimpanan.

Hasil penelitian Valik *et al.*, (2003) menyimpulkan bahwa pada suhu penyimpanan 9°C dan di atasnya akan memungkinkan pertumbuhan *Bacillus cereus*. Susu pasteurisasi pada suhu penyimpanan 9°C dan di atasnya, daya simpan hanya sekitar 5 hari. Pada suhu penyimpanan kurang 7°C, bakteri lainnya (*psychrotrophic*) tumbuh dengan cepat dan menimbulkan keracunan pada susu pasteurisasi, sebelum *Bacillus cereus* mencapai angka 1×10^4 cfu/ml dan menghasilkan *enterotoxin*. Secara umum prediksi pada suhu penyimpanan 4°C untuk mencapai angka 1×10^4 cfu/ml (*Bacillus cereus*) sekitar 26 hari, namun TPC sudah mencapai 5×10^4 cfu/ml dalam waktu 12 hari.

Berdasarkan hasil penelitian Valik *et al.*, (2003) tersebut, diperlukan tanggung jawab produsen susu pasteurisasi untuk

menjamin bahwa daya simpan yang dicantumkan pada produknya dapat diteliti secara seksama, berdasarkan TPC dan jumlah *Bacillus cereus*, disesuaikan dengan suhu penyimpanan yang disarankan para konsumen. Namun bukan berarti penyimpanan di bawah 9°C akan tetap aman, bakteri lainnya yang bersifat *psychrotrophic* akan menjadi penyebab kerusakan dan keracunan pada susu.

Umiyasih (1986) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pembuatan susu pasteurisasi dapat dilakukan secara sederhana dengan memanaskan susu dalam kemasan plastik polyethylene (PE) dengan menggunakan dandang yang diisi air pada suhu 75°C. Pasteurisasi cara ini ternyata mampu menekan perkembangan jumlah bakteri hingga dapat mempertahankan kualitas sekaligus daya simpan susu sampai 8 hari dengan penyimpanan dalam lemari pendingin.

STANDAR MUTU SUSU PASTEURISASI

Tabel 7. Syarat Mutu Susu Pasteurisasi

Karakteristik	Syarat	
	A	B
Bau	Khas	Khas
Rasa	Khas	Khas
Warna	Khas	Khas
Kadar Lemak, % (b/b) min.	2,80	1,50
Kadar padatan tanpa lemak, % b/b min.	7,7	7,5
Uji reduktase dengan methylen biru	0	0
Kadar Protein, % b/b min.	2,5	2,5
Uji Fosfatase	0	0
TPC (total Plate Count), ml maks.	3×10^4	3×10^4
Coliform presumptive MPH/ml, maks.	10	10
Logam berbahaya		
As (ppm) maks .	1	1
Pb (ppm) maks.	1	1
Cu (ppm) maks.	2	2
Zn (ppm) maks.	5	5
Bahan Pengawet	Sesuai Peraturan menteri kesehatan RI NO 235/Men.Kes/Per/IV/79	
Keterangan:		
A: susu Pasteurisasi tanpa penyedap cita rasa		
B: susu Pasteurisasi diberi penyedap cita rasa		

Sumber : Badan Standardisasi Nasional, 1995

2.6 STERILISASI SUSU

PENGERTIAN SUSU STERILISASI

Susu sterilisasi adalah susu yang mengalami proses pemanasan pada suhu tinggi dan waktu yang singkat sehingga susu bebas dari pertumbuhan bakteri maupun bakteri spora (Aritonang, 2009). Definisi terakhir susu sterilisasi tidak berarti selalu bebas dari pertumbuhan bakteri spora. Karena bakteri spora ini seperti *Bacilli thermophilic* masih ditemukan tetapi tidak berkembang didalam susu.

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh mikroorganisme sampai ke spora-sporanya, yang terdapat di dalam bahan makanan. Proses ini dilakukan dengan cara memanaskan makanan sampai temperatur 121°C, selama waktu 15 menit. Salah satu contoh alat untuk melakukan sterilisasi adalah *Autoclave*. Pada alat *Autoclave* ini, bahan makanan dipanaskan sampai temperatur 121-134°C, selama 15 menit untuk temperatur 121°C, atau pada temperatur 134°C selama 3 menit. Setelah pemanasan ini, dilakukan pendinginan secara perlahan untuk menghindari over-boiling ketika tekanan diberikan pada makanan (Hendrawati dan Utomo, 2017).

PENGARUH STERILISASI TERHADAP SUSU

Penelitian yang dilakukan oleh Hendrawati dan Utomo, (2017) sterilisasi pada suhu 110°C selama 10 menit dapat sedikit meningkatkan parameter rasa, warna dan bau. Sedangkan pada parameter kenampakan dan kekentalan sedikit mengalami penurunan dibanding kontrol. Waktu sterilisasi terbaik 10 menit pada suhu 110°C. Rizal *et al.*, (2016) mendapatkan kombinasi terbaik suhu dan waktu sterilisasi susu sapi cair pada suhu 121°C dengan waktu 8 menit yang memberikan hasil terbaik tanpa mempengaruhi kadar protein dan berat jenis susu serta mampu membunuh bakteri termofilik dan tidak mempengaruhi aroma dan rasa.

METODE STERILISASI SUSU

Beberapa metode sterilisasi yang sering digunakan pada susu:

1. In Bottle sterilization

Susu dimasukkan dalam botol lalu disterilkan pada temperatur antara 105 – 120°C. Sterilisasi bisa dilakukan didalam autoclave atau dalam tower sterilisasi.

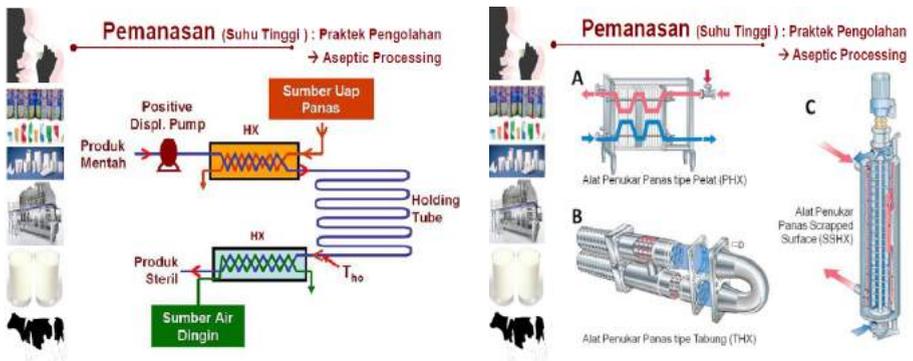


Gambar 8. In Bottle sterilizatin

Sumber : <http://seafast.ipb.ac.id/publication/presentation/UHT-aseptic-susu-segar.pdf>

2. UHT (Ultra High Temperatur Short time)

Susu sterilisasi dalam aliran yang berkesinambungan pada temperatur sangat tinggi (130 – 150°C) dalam waktu yang singkat (1 – 2 detik). Metode ini dipakai pada produk yang sudah dikemas dalam container yang sudah disterilkan.



Gambar 9. Ilustrasi aliranberkesinambungan

Sumber : <http://seafast.ipb.ac.id/publication/presentation/UHT-aseptic-susu-segar.pdf>

3. Two stage process sterilization (sterilisasi dua tingkat)

Pertama susu disterilkan dengan cara UHT, lalu dimasukkan ke dalam botol untuk kemudian diberi perlakuan panas untuk membunuh spora yang mungkin masu selama memasukkan susu kedalam botol.

a. In Bottle sterilization atau the Batch Process

Jika susu akan diproses langkah pertama dipanaskan sekitar 45°C dalam plate heat exchanger. Susu lalu diklarifikasi setelah itu susu kembali dimasukkan ke dalam plate heat exchanger untuk kemudian dipanaskan pada 75°C. Pada temperatur tersebut susu sekaligus dihomogenisasi. Ini merupakan bagian paling penting dari proses sterilisasi susu. Sebab jika tidak maka lemak naik sampai dileher botol selama pemanasan dan penyimpanan dan terbentuk masa dari bahan padat dan semi padat yang tidak diinginkan.

Proses homogenisasi meningkatkan temperatur susu beberapa derajat. Susu melewati tangki saat menuju mesin pengisian. Susu diisi ke botol kaca atau cangkir bersih menggunakan pengisi vakum. Botol yang sudah diisi biasanya disimpan dulu di dalam krat atau peti sebelum dimasukkan ke dalam autoclave. Autoclave lalu dipanaskan dengan uap dengan tekanan sesuai dengan temperatur yang diperlukan (110°C selama 30 – 45 menit). Setelah waktu prosesing yang diinginkan tercapai maka uap akan dikeluarkan ke atmosfer, lalu autoclave dibuka, dan krat berisi botol – botol dipindahkan untuk kemudian didinginkan secara alami dengan menyempatkan udara dari kipas angin. Kelebihan dan kekurangan metode ini adalah :

1. Ekonomis susu yang jumlahnya sedikit
2. Pengaturan waktu dan temperatur sterilisasi mudah dilakukan
3. Tidak terjadi rekontaminasi selama pengisian
4. Produk kurang seragam
5. Perkembangan rasa dan warna yang tidak diinginkan.

b. Tower Sterilisasi.

Prosedurnya sama dengan Batch Process yang dilanjutkan sampai botol ditutup. Botol yang sudah diisi dan ditutup lalu oleh rangkaian conveyor diantar ke tower sterilizer yang terdiri dari 3 bagian. Tower yang tengah tempat beradanya tekanan uap dimana sterilisasi berlangsung. Tower pertama dan terakhir berisi air yang berfungsi sebagai penutup uap dimana tekanan meningkat lebih dari satu atmosfer. Kelebihan dan kekurangan metode ini:

1. Perlakuan sterilisasi seragam.
2. Ekonomis dalam penggunaan uap, air dan listrik.
3. Memerlukan hanya sedikit tenaga kerja
4. Memerlukan ruangan yang luas akan digunakan 20 jam per hari

5. Cocok untuk susu yang jumlahnya banyak.
6. Terjadi perkembangan rasa yang tidak diinginkan jika dibandingkan dengan susu UHT.

PERTANYAAN

1. Jelaskan jenis-jenis mikroorganisme yang mengkontaminasi susu
2. Jelaskan tahapan proses pemerahan
3. Sebutkan klasifikasi pasteurisasi dan sterilisasi

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, Triyantini, R. Sunarlim, H. Setiyanto, dan Nurjannah. 2001. Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi Terhadap Mutu Susu Selama Penyimpanan. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner Vol. 6 No. 1 Th. 2001, 45-50.*
- Altalhi AD, Hassan SA. 2009. Bacterial quality of raw milk investigated by *Escherichia coli* and isolated analysis for specific virulence-gene markers. *Food Control* 20: 913-917.
- Aryana. S. 2011. Kondisi Sanitasi Peralatan dan Air Terhadap Peningkatan Jumlah Total Mikroorganisme Susu Individu – Susu Kandang – Susu Tempat Pengumpul Susu di Peternakan Kunak Bogor. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Badan Standardisasi Nasional. 2000. SNI 01–6366–2000. Batas Maksimum Cemarkan Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan. Standar Nasional Indonesia. Jakarta
- Badan Standardisasi Nasional. 1995. SNI 01–3951–1995. Susu Pasteurisasi. Standar Nasional Indonesia. Jakarta .
- Badan Standardisasi Nasional. 1995. SNI 01-3951-1995. Susu Pasteurisasi. Standar Nasional Indonesia. Jakarta.
- Bennett RW. 2005. *Staphylococcus aureus. The Microbiological Safety and Quality of Food.* Maryland (US): Marcel Dekker Inc.
- Budiyono. H. 2009. Analisis Daya Simpan Produk Susu Pasteurisasi Berdasarkan Kualitas Bahan Baku Mutu Susu. *Jurnal Paradigma Vol X. No. 2; 198-211*
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, Wotton M. 2007. *Ilmu Pangan.* Purnomo H, Adiono, penerjemah. Depok (ID): UI Pr.

- Cahyono, D., Masdiana, C. P dan Manik, E. S. 2013. Microbiological Qualities (TPC, Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus) of Fresh Milk from Subdistrict Krucil Probolinggo Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak Vol. 8 No. 1: 1-8
- Cempirkova, R. (2006) Factors Negatively influencing microbial contamination of milk. *J. Agric. Trop. Et Subtrop.* 39: 220-221.
- Chapman, K. W., and K. J. Boor. 2001. *Acceptance of 2% ultrapasteurized milk by consumers, 6 to 11 years old.* *J. Dairy Sci.* 84:951-954.
- Departemen Pertanian. 2006. Permentan No.55/Permentan/OT.140/10/2006 tentang Pedoman Pembibitan Sapi Perah yang Baik. <http://www.deptan.go.id> [20 Februari 2018].
- Direktorat Penanganan Pasca Panen Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2006. Pedoman Umum Penanganan Pasca Panen Produk Peternakan. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Donnelly CW. 2001. *Listeria monocytogenes*. Di dalam: Hui YH, Pierson MD, Gorham JR, editor. *Foodborne Disease Handbook 2nd Edition*. New York (US): Marcel Dekker Inc. hlm 213-245.
- Effendi H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta (ID): Kanisius.
- Ernawani. 1991. Pengaruh Tatalaksana Pemerahan Terhadap Kualitas Susu Kambing. *Media Peternakan* Vol 15: 38-46. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ernawati. 1986. Pengaruh Penanganan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Air Susu Sapi. *Media Peternakan* Vol: 50-59. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Foreman, I. 2008. *Factors Affecting Keeping the Quality of Heat-Treated Milk*. Dairy Technologist/Processing Engineer, Land O. Lakes, Africa.
- Forsythe SJ, Hayes PS. 1998. *Food Hygiene, Microbiology and HACCP 3rd Edition*. Gaithersburg, Maryland (US): Aspen Publisher, Inc.
- Guessas B, Kihal M. 2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. *AJ Biotechnol* 3(6): 339-342.
- Handayani KS, Purwanti M. 2010. Kesehatan ambing dan higiene pemerahan di peternakan sapi perah Desa Pasir Buncir, Kecamatan Caringin. *J Penyuluh Per* 5(1):47-54.

- Hariyadi, P. 2011. Sterilisasi UHT dan Pengolahan Aseptik. <http://seafast.ipb.ac.id/publication/presentation/UHT-aseptic-susu-segar.pdf>. [diakses 30 April 2018]
- Hendrawati T. Y dan Suratmin U. 2017. Optimasi Suhu dan Waktu Sterilisasi pada Kualitas Susu Segar di Kabupaten Boyolali. *Jurnal Teknologi* Vol 9 No. 2: 98-101.
- Hidayat, Efendi, Fuat dan Patyadi. 2006. Manajemen kesehatan perah. www.disnak.jabarprov.go.id.
- Hutagaol, F.V.A. 2013. Kualitas mikrobiologis susu sebelum dan sesudah pasteurisasi. Skripsi. Fakultas kedokteran hewan institut pertanian bogor. Bogor
- International Dairy Federation Food-Agriculture Organization of the United Nations. 2004. Guide to good dairy farming practice. IDF and FAO Task Force on Good Dairy Farming Practices, Roma, Italia.
- Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. 2005. *Modern Food Microbiol.* Ed. Ke-7. California (US): Business Media Inc.
- Kampus Peternakan. 2016. Teknik Pemerahan susu dengan tangan. <https://kampuspeternakan.blogspot.co.id/2016/12/teknik-pemerahan-susu-dengan-tangan.html>. [diakses pada 1 Mei 2018].
- Lukman DW et al. 2009. Mikrobiologi Susu. Di dalam: Pisestyani H, editor. *Higiene Pangan*. Bogor (ID): Kesmavet FKH IPB.
- Manning SD. 2010. *Escherichia Coli Infections*. Philadelphia (US): Chelsea House Pub.
- Melia, S., Ferawati, dan Yuherman. 2017. Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik yang Diisolasi dari Susu Segar. Laporan Penelitian PDUPT. Universitas Andalas.
- Mellenberger RW. 1997. Vaccinations against mastitis. *J. Dairy Sci.* 60 (6): 1016-1021
- Prahesti, K. I. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Listeria monocytogenes* dari Susu Sapi Segar di Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Prescott JF, Songer G, Thoen CO. 2010. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals 4th edition. New Jersey (US): Wiley-Blackwell.
- Putra A. 2009. Potensi penerapan produksi bersih pada usaha peternakan sapi perah (Studi kasus pemerahan susu sapi Moeria Kudus, Jawa Tengah) [tesis]. Semarang: Magister Ilmu Lingkungan, Universitas Diponegoro Semarang.

- Rizal, M. S., Enny, S dan Suprihana. 2016. The effect of time and temperature sterilization on The cow milk chocolate flavour. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian "Agrika"*, Vol10, No 1: 20-30.
- Ryan KJ, Ray CG. 2004. *Sherris Medical Microbiology*. 4th ed. Boston (US): McGraw-Hill. p 273-296.
- Soriano JM, Font G, Moltó JC, Manes J. 2002. Enterotoxigenic Staphylococci and their toxin in restaurant food. *Trends Food Sci Tech* 13: 60-67.
- Songer JG, Post KW. 2005. *Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*. Philadelphia (US): Elsevier Saunders. 448 p
- Sperling MV. 2007. *Biological Wastewater Treatment: Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal*. London (UK): IWA Pub.
- Saleh E. 2004. Dasar pengolahan susu dan hasil ikutan ternak. Program Studi Produksi Ternak Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Sharma, R., Bhagwan S.s., Gulab, S.T, Pallavi, J., Sangeeta, P., Anjana, S., dan Prakash S.B., 2013. Characterization of lactic acid bacteria from raw milk Sample of cow, goat, sheep, Camel and Buffalo With Special Elucidation to Lactic Acid Production. *British Microbiology Research Journal*, 2(4) : 743-752
- Umiyasih, U., D.B. Wijono dan Soemarmi. 1986. Pengaruh pasteurisasi sederhana terhadap kualitas susu. Proc. Seminar Pemanfaatan Lahan Sempit untuk Meningkatkan Produksi peternakan. Nuffic-Univ. Brawijaya. Malang.
- Usmiati, S dan Abubakar. 2009. *Teknologi Pengolahan Susu*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. ISBN : 978-979-1116-18-3. Bogor.
- Valik L., F. Gorner, and D. Laukova. 2003. *Growth dynamics of Bacillus cereus and shelf-life of pasteurised milk*. Czech J. Food Sci., 21: 195–202. Department of Nutrition and Food Hygiene, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic
- Wahyuni AE, Wibawan IWT, Pasaribu FH, Prisoeryanto BP. 2006. Distribusi serotipe *Streptococcus agalactie* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah di Jawa Timur, Jawa tengah, dan Jawa Barat. *J Vet*. 7(1):1-8.

BAB III

BAKTERI ASAM LAKTAT PADA SUSU

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa mampu memahami metode yang digunakan untuk menentukan adanya Bakteri Asam Laktat pada susu.
2. Mahasiswa mampu menjelaskan faktor apa saja yang mempengaruhi perbedaan jumlah BAL pada susu sapi, kambing dan kerbau di Sumatera Barat.
3. Mahasiswa mampu menjelaskan perbedaan hasil pengamatan BAL secara makroskopis dan mikroskopis.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri gram-positif, non spora, berbentuk bulat atau batang, yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari fermentasi karbohidrat. Awalnya bakteri asam laktat diklasifikasikan menjadi empat kelas yaitu genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*. Klasifikasi tersebut didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan untuk tumbuh pada suhu yang berbeda, sifat streospesifik (D atau L laktik), serta toleransi terhadap asam basa. Selanjutnya klasifikasi bakteri asam laktat berkembang sehingga genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*. Sedangkan grup *Streptococcus* menjadi empat genus : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* dan *Enterococcus*. Genus *Pediococcus* menjadi *Pediococcus*, *Tetragenococcus* dan *Aerococcus*. Untuk genus *Lactococcus* tetap. Klasifikasi baru tersebut dihasilkan dengan mempertimbangkan komposisi asam lemak pada membran sel, motilitas dan urutan rRNA serta persen guanine dan sitosin pada DNA. Ditambah dengan jenis bakteri asam laktat lainnya yang juga digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, dan *Weissella* (Salminen, *et al.*, 2004).

Aktifitas bakteri asam laktat dapat menyebabkan penurunan pH, yang mana bakteri patogen tidak dapat tumbuh pada pH rendah. Bakteri asam laktat juga di golongkan sebagai bakteri probiotik yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroorganisme tertentu, toleran terhadap asam lambung dan tidak berbahaya (Noordiana *et al.*, 2013). Menurut Cleveland *et al.* (2001), dalam Industri pangan, bakteri asam laktat telah digunakan secara luas sebagai kultur starter untuk fermentasi susu, daging, sayuran dan

bakteri. Selain berfungsi untuk memperbaiki cita rasa, bakteri asam laktat juga memiliki efek pengawetan pada produk yang dihasilkan. Sehingga saat ini berkembang penerapan bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkan dengan tujuan utama untuk pengawetan pangan.

Lebih lanjut Surono (2004), menjelaskan bahwa strain probiotik bersifat antibakteri pathogen karena senyawa antimikroba yang dihasilkan. Selain metabolit primer seperti asam laktat, asetat dan propionate, grup yang paling penting dari senyawa antimikroba probiotik dikenal sebagai bakteriosin. Bakteriosin merupakan suatu metabolit sekunder dan peptide berberat molekul tinggi yang disintesis dalam ribosom. Efek antimikroba bakteri asam laktat telah diperhitungkan untuk dapat memperpanjang masa simpan. Efek pengawetan bakteri asam laktat utama adalah karena menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan nilai pH. Beberapa jenis bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri sejenis. Galvez *et al* (2007), kriteria bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri gram positif, yaitu suatu jenis protein, bersifat bakterisidal, tidak hanya bakteriostatik, mencegah pertumbuhan bakteri sejenis, dan mempunyai pelekatan spesifik bagi pathogen, yang membedakan dengan senyawa mikroba lainnya.

3.1 ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT

A. METODE KONVENSIONAL

Isolasi Bakteri Asam Laktat

1).Metode perhitungan total koloni bakteri asam laktat (Purwati, E., *et al.*, 2014) :

1. Sterilisasi peralatan (cawan petri (*petridish*), tabung reaksi, erlenmeyer, tabung *ependorf*, tip pipet mikro, *hockey stick*) pada autoclave suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 15 lbs.
2. Larutan pengencer dibuat dengan melarutkan 16.443 g *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth (*Merck*) dalam 315 ml aquades untuk 7 sampel dan sampai pengenceran 10^{-5} (Pembuatan secara umum adalah 52,2g MRS Broth dalam 1000 ml aquades). Kemudian media dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer* diatas hot – plate pada suhu 100 °C,selanjutnya dimasukkan ke dalam *autoclave* (15 menit, 121 °C dan tekanan 15 lbs).

3. Persiapan media agar *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Agar (Merck) (Melarutkan 66,2 g MRS Agar dalam 1 000 ml aquades), kemudian dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer*, diatas *hot plate* pada suhu 100 °C, lalu di *autoclave*, setelah agak dingin (± 55 °C) lalu dituang ke dalam cawan petri sebanyak ± 15 ml.
4. Sampel ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth, divortex hingga homogen (pengenceran 10^{-1})
5. Hasil pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth, divortex hingga homogen. Hasil pengenceran ini disebut dengan pengenceran 10^{-2} , begitu seterusnya sampai pada pengenceran 10^{-5} .
6. Dari pengenceran 10^{-5} diambil 100 μ l sampel kemudian ditanam dengan metode *spread* pada petridish yang telah berisi media MRS Agar kemudian diratakan dengan *hockey stick* yang sebelumnya telah diberi alkohol dan dibakar diatas apibunsen. Pekerjaan ini dilakukan dalam *laminar flow* dan didekat api bunsen.
7. Pada inokulum dilakukan pengkodean petridish dengan memberi label pada masing-masing petridish kemudian diinkubasi dalam anaerob jar lalu dimasukkan dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C.
8. Setelah penyimpanan 48 jam, koloni BAL yang tumbuh dilihat dan dihitung dengan menggunakan alat *quebec colony counter*. Hasil perhitungan koloni BAL dikalikan dengan sepuluh kemudian dihitung total koloni BAL dengan rumus sebagai berikut:

Total koloni bakteri asam laktat BAL (CFU (Colony Forming Unit/g) =

$$\text{Total koloni BAL} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{berat sampel}}$$



Gambar 10. Bakteri asam laktat dalam media MRS broth



Gambar 11. Bakteri asam laktat dalam media MRS agar

2). Karakteristik Bakteri Asam Laktat (Purwati, E., *et al.*, 2014)

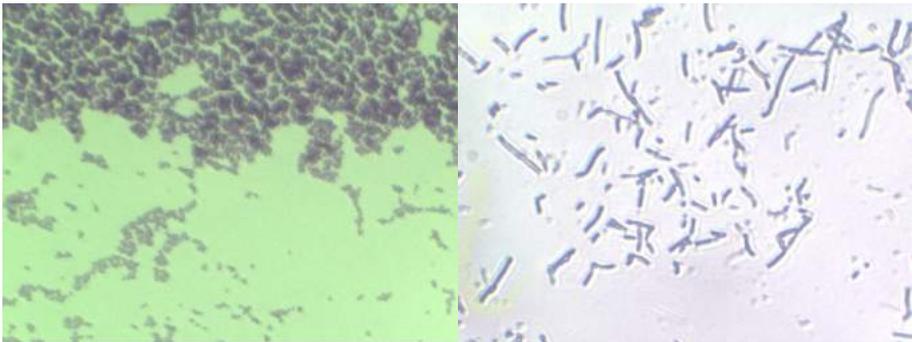
Tahapan yang dilakukan dalam persiapan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) menurut adalah:

1. Sterilisasi alat dilakukan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 15 lbs

2. Persiapan media *enrichment* yaitu dengan melarutkan 52.2g MRS *Broth* dalam 1000ml aquades, kemudian dipanaskan sambil dihomogenisasi dengan *hotplate-stirrer* pada suhu 100°C, setelah agak dingin ($\pm 55^{\circ}\text{C}$) lalu dituang ke dalam erlenmeyer kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* (15 menit, 121°C dan tekanan 15 lbs).
3. Persiapan media *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Agar (Merck) 66.2g MRS Agar dalam 1000 ml aquades), kemudian dipanaskan sambil dihomogenisasi dengan *hotplate-stirrer* pada suhu 100°C, lalu dimasukkan ke dalam *autoclave*, setelah agak dingin ($\pm 55^{\circ}\text{C}$) dituang ke cawan petri sebanyak $\pm 15\text{ml}$.
4. Sampel sebanyak 1g, kemudian dilarutkan ke dalam 9 ml larutan MRS *Broth* dalam tabung reaksi, kemudian di homogenisasi menggunakan vortex. Hasil inidisebut pengenceran 10^{-1} , dimasukkan ke dalam anaerob jar, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C. Proses ini disebut dengan tahapan *enrichment*.
5. Hasil 10^{-1} tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan MRS *Broth*, lalu dihomogenkan. Hasil pengenceran ini disebut dengan pengenceran 10^{-2} , begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-7} .
6. Pada pengenceran 10^{-7} , diambil 100 μl sampel dan ditanam dengan metode *spread* pada *petridish* yang telah berisi media MRS Agar, kemudian diratakan dengan *hockey stick* yang telah disterilkan dengan alkohol dan dibakar dengan bunsen lalu diangin-anginkan.
7. Pada inokulum dilakukan pengkodean *petridish* dengan menandai masing-masing *petridish* kemudian disimpan dalam anaerob jar dan diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C.
8. Setelah 48 jam, *single colony* yang mencirikan bakteri asam laktat yaitu bulat berwarna putih kekuningan dipindahkan ke media MRS Agar untuk pemurnian koloni dengan metode *streak plate* yaitu dengan menggunakan jarum ose kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.
9. Pada koloni yang mencari BAL dilakukan pewarnaan gram.

3). Morfologi Secara Makroskopik dan Mikroskopik Bakteri Asam Laktat

Pengamatan morfologi secara makroskopik dapat diketahui melalui bentuk koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRS Agar. Sedangkan pengamatan morfologi secara mikroskopik dapat diketahui melalui hasil uji pewarnaan gram berupa bentuk koloni yang menyerupai coccus maupun basil dan berwarna ungu yang menandakan bakteri gram positif.



(a)

(b)

Gambar 12. a. Bentuk bulat (coccus), b. Bentuk batang (basil)

4). Biokimia

Metode Pewarnaan Gram

Tahapan uji pewarnaan gram menurut Menurut prosedur Harley dan Prescott (2002) sebagai berikut: 1) diambil biakan bakteri dan bakteri diratakan diatas kaca benda (*preparat*) yang telah dibersihkan dengan alcohol, 2) lalu dikeringkan diatas Bunsen atau alat pengering, 3) ditetesi dengan zat warna kristal violet, 4) kemudian ditunggu selama 30 detik agar zat warna meresap oleh bakteri, 5) lalu dibilas dengan air mengalir 5 detik dan ditetesi dengan larutan iodin kompleks, kemudian ditunggu selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir 5 detik, 6) dicuci dengan alcohol dengan cara mencelupkan kedalam alcohol 95% (15-30 detik) dan dibilas lagi dengan air 5 detik, 7) ditetesi dengan zat warna safranin, lalu ditunggu 30 detik dan dibilas dengan air 5 detik, 8) setelah itu dikeringkan dan diperiksa dibawah mikroskop (400x dan 1000x) dengan menggunakan minyak imersi. Bakteri gram-positif ditunjukkan dengan warna biru-ungu, dan bakteri gram-negatif ditunjukkan oleh warna pink-merah.



Gambar 13. Metode Pewarnaan Gram

a. Uji katalase

Dilakukan dengan meneteskan 2 tetes H_2O_2 3% pada kultur yang berumur 24 jam. Reaksi positif katalase ditunjukkan dengan membentuk gelembung yang artinya ada pembentukan gas oksigen sebagai hasil pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi bakteri tersebut. Bakteri asam laktat termasuk bakteri katalase negatif, sehingga tidak menghasilkan gelembung udara (Nuryady *et al.*, 2013).



Gambar 14. Uji Katalase

b. Uji gas

Uji tipe fermentasi digunakan untuk menggolongkan bakteri asam laktat ke dalam kelompok homofermentatif atau heterofermentatif. Uji dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur bakteri pada MRS cair dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Inkubasi 2 hari

pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham. (Nuryady *et al.*, 2013).

c. Fermentasi Gula

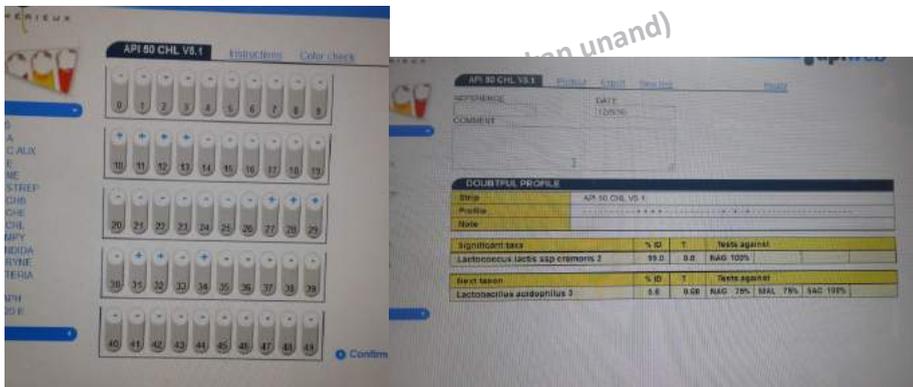
Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menggunakan sumber karbon yaitu glukosa, D-galaktosa, gliserol, D-fruktosa, D-manosa, D-sorbitol, D-laktosa, dan D-Saccharose. Masing-masing sumber karbon 5 g/l dicampurkan dengan MRSB. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham sebanyak 8 ml, lalu solate yang berumur 24 jam dimasukkan ke dalam tabung dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

B. METODE API CH 50

Strip uji API 50 CHL (Biomerieux, Prancis) digunakan untuk identifikasi strain *lactobacilli*, *lactococci*, *leuconostoc*, *pediococcus* dan *S. thermophilus* sementara API 20 STREP (Biomerieux, Prancis) digunakan untuk pola fermentasi enzimatik dan karbohidrat dari strain enterococci. Sistem API telah terbentuk sesuai dengan instruksi pembuatannya. Database API LAB PLUS (Bio Merieux, Prancis) digunakan untuk interpretasi hasilnya.



Gambar 15. Strip API CHL 50 (Bio Merieux, Prancis)



Gambar 16. Proses Pengolahan Data di WEB API CHL 50

C. METODE MOLEKULER

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) 16S rRNA

Dalam melakukan Identifikasi Bakteri Asam Laktat 16S rRNA mempunyai beberapa tahap yaitu:

a. Ekstraksi DNA dengan Kit DeRiPRO

1. Pipet sebanyak 1 ml hasil enrichment kultur bakteri, masukkan ke dalam eppendorf
2. Sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm pada suhu 27°C
3. Hasil terdiri atas pelet dan supernatan. Pelet diambil dan supernatan dibuang
4. Tambahkan 500 µl ddH₂O kedalam eppendorf tersebut
5. Homogenkan dengan cara dijentik-jentik
6. Sentrifuge kembali selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm pada suhu 27°C
7. Hasil terdiri atas pelet dan supernatan. Pelet diambil dan supernatan dibuang
8. Tambahkan sebanyak 200 µl lysozym
9. Masukkan kedalam *waterbath* selama 1 jam pada suhu 65°C
10. Tambahkan Buffer I sebanyak 200 µl
11. Homogenkan dengan cara dijentik-jentik
12. Masukkan kedalam *waterbath* kembali selama 20 menit pada suhu 65°C
13. Tambahkan Buffer II sebanyak 200 µl

14. Homogenkan dengan cara dijentik-jentik pelan
15. Sentrifuge selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm pada suhu 27°C
16. Hasil terdiri atas pelet dan supernatan. Supernatan dipindahkan eppendorf baru, sedangkan pelet dibuang
17. Tambahkan Buffer III sebanyak 800 µl
18. Homogenkan dengan cara dibolak-balik
19. Sentrifuge selama 6 menit dengan kecepatan 14.000 rpm pada suhu 65°C
20. Hasil berupa pelet dan supernatan. Pelet diambil dan supernatan dibuang.
21. Masukkan sebanyak 50 µl ddH₂O kedalam eppendorf yang berisi DNA pada dinding eppendorf.
22. Masukkan kedalam waterbath selama 2 menit pada suhu 60°C lalu di homogenkan

Apabila pelet masih tercampur dengan supernatan, maka sentrifuge kembali semalam 1 menit dengan kecepatan 13.000 rpm pada suhu 27 C sentrifuge kembali selama 3 detik dengan kecepatan 14.000 rpm pada suhu 27°C dan supernatan yang masih tersisa dipipet kembali jangan sampai menyentuh dinding eppendorf

b. Rangkaian Proses Pembuatan Gel Agarose

Pembuatan Gel Agarose untuk Proses Elektroforesis Ekstrak Genom (0.8% Agarose)

1. Timbang sebanyak 0,32 gr agarose, masukkan ke dalam erlenmyer
2. Tambahkan 40 ml Buffer TAE, lalu dihomogenkan
3. Panaskan didalam microwave selama 1 menit 20 detik pada suhu 80°C
4. Tambahkan red safe atau Gelview sebanyak 2 µl untuk 40 ml Buffer TAE,lalu homogenkan
5. Masukkan Gel Agarose ke dalam cetakan, tunggu sampai mengeras ± 30 menit
6. Setelah itu, masukkan kedalam refrigerator, tunggu selama 5 menit

c. Persiapan primer PCR (16S rRNA)

1. PrimerR (16S-1492R, Tm 47oC, 5'GTT TAC CTT GTT ACG ACTT-3) dan F (16S- 27F Tm 54.3oC, 5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3), disiapkan (konsentrasi 10pM)
2. Ambil 90 µl dH2O + 10µl (Primer R dan F)
(Catatan: Primer R dan F dalam TE buffer (konsentrasi 100µM))

d. PCR

Tabel 8. Pembuatan PCR Mix dalam 1 eppendorf, yang nantinya akan dibagi ke masing-masing eppendorf mini sebanyak 20 µl

Komposisi	Banyak (µl)	10 kali (sampel)
Master Mix	12.5µl x 12 sampel	150 µl
Primer F	1µlx 12 sampel	12µl
Primer R	1µlx 12 sampel	12µl
dH ₂ O	5.5 µlx 12 sampel	66µl
	20.0	
DNA (tetap)	5.0	5.0
Total	25.0	

1. Pipet sebanyak 20 µl untuk masing-masing eppendorf mini
2. Tambahkan masing-masing ekstrak DNA sebanyak 1 µl kedalam masing-masing eppendorf mini tersebut.

Tabel 9. PCR program

Pre denaturasi	95°C	2 menit
Denaturasi	95 °C	45 detik
Anneling	56 °C	45detik
Extention	72 °C	1 menit 40 detik
Final extention	72 °C	10 menit
Pendinginan	4 °C	~

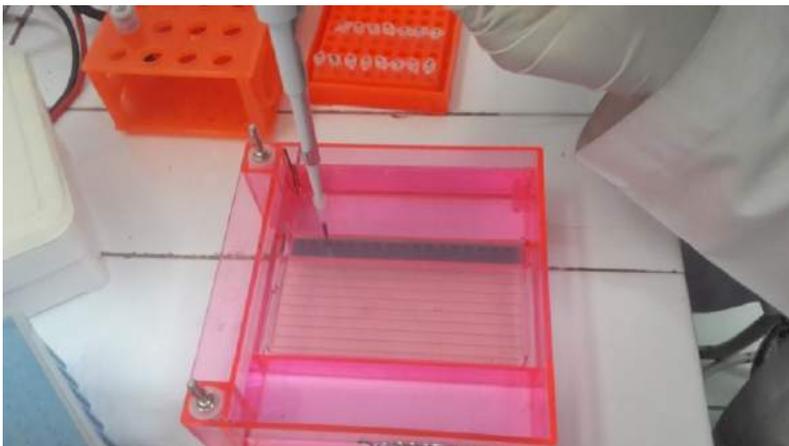
e. Pembuatan Gel Agarose untuk Proses Elektroforesis Produk PCR (1.5% Agarose)

- a. Timbang sebanyak 0,6 gr agarose, masukkan ke dalam erlenmyer

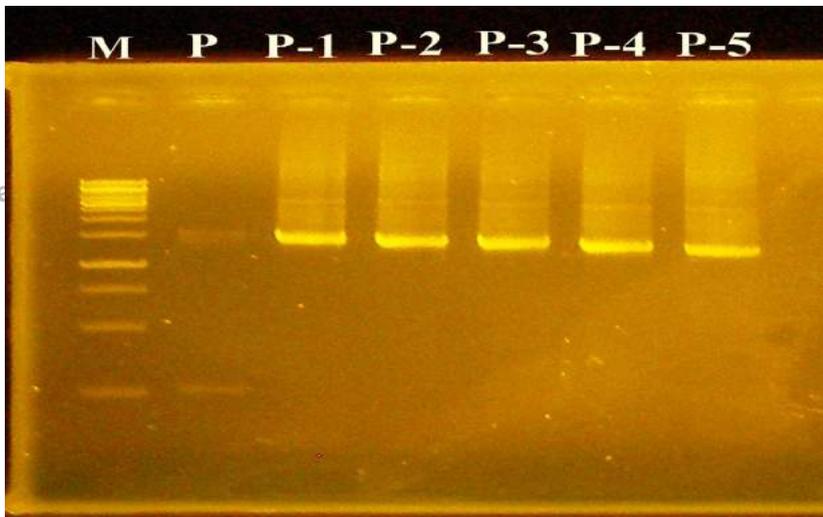
- b. Tambahkan 40 ml Buffer TBE, lalu dihomogenkan
- c. Panaskan didalam microwave selama 1 menit 20 detik pada suhu 800C
- d. Tambahkan red safe atau Gelview sebanyak 2 μ l untuk 40 ml Buffer TAE, lalu homogenkan
- e. Masukkan Gel Agarose ke dalam cetakan yang telah dipasang dengan comb nya, tunggu sampai mengeras \pm 30 menit. Setelah agar mengeras, Angkat comb dengan hati-hati
- f. Setelah itu, masukkan agar tersebut kedalam refrigerator, tunggu selama 5 menit

f. Running Gel Elektroforesis :

1. Letakkan agar di dalam elektroforesis
2. Masukkan larutan TBE hingga agar terbenam
3. Injek sampel 10 ul ke dalam well agar
4. Masukkan DNA ladder 4 μ l
5. Atur 100V, 45 menit
6. Gel kemudian diletakkan didalam wadah kemudian ditambah lagi dengan TBE sampai terendam. Gel kemudian dilihat dibawah lampu UV.
7. Setelah terbaca di UV sampel dari hasil PCR yang terbaca kemudian menjadi stock DNA disimpan pada suhu 20 0C untuk dikirim sekuensing.



Gambar 17. Running Gel Elektroforesis



Gambar 18. Hasil PCR Setelah Elektroforesis

g. Analisis Data Sekuensing

Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program software DNA star. Untuk analisa sequence alignment, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (query) dengan yang telah ada Gene Bank dengan database searches NCBI internet site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

2_1342pb

```

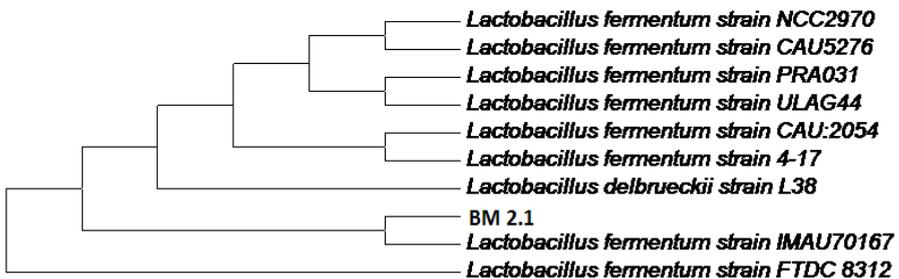
CGCGTGTGGCCCGTTGATTGATGGTGTCTTGACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTAAGTTACCTGCCCGAATCGGGGGACAACATTTGGAAACAGATGCTGATACCGCATAACAGCGTTGTTC
GCATGAACAACGCTTAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGG
GGTAATGGCCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGC
CCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAG
TGAAGAACGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAAGACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGAC
GGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACATGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGG
ATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTG
CATCGAAACTGGATAACTTGAAGTGCAGAAGAGGGTAGTGAACTCCATGTGTAGCAGTGGAAATGCGTAGATAAT
GGAAGAACCACAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACA
GGATTATACCTGGTAGTCCATGCCGTAACAGATGAGTGTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCG
GAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTGGGAGTACGACCCGAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCG
CACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGTGACATCTTGCGCCAAC
CCTAGAGATAGGGCGTTTTCTTTCGGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTACTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACT
GCCGTTGACAAACCGGAGGAAGTGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTTGC
TACAAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAAACCGTTCTCAGTTCGGACTG
CAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAAT

```

Gambar 19. Urutan nukleotida bakteri asam laktat

Lactobacillus fermentum strain CAU:3680 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2356	2356	100%	0.0	99%	MF354109.1
Lactobacillus fermentum partial 16S rRNA gene, strain PRA031	2356	2356	100%	0.0	99%	HE661288.1
Lactobacillus fermentum strain ULAG44 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2356	2356	99%	0.0	99%	JN944705.1
Lactobacillus fermentum strain IMAU70167 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2356	2356	100%	0.0	99%	GQ131282.1
Lactobacillus fermentum strain CAU5899 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2354	2354	100%	0.0	99%	MF357687.1
Lactobacillus fermentum strain CAU5900 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2354	2354	100%	0.0	99%	MF357686.1
Lactobacillus fermentum strain CAU5888 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2354	2354	100%	0.0	99%	MF357657.1

Gambar 20. Hasil BLAST bakteri asam laktat



Gambar 21. Phylogenetic tree bakteri asam laktat

3.2 Total Koloni Bakteri Aerob Dan Total Koloni Bakteri Asam Laktat Susu

Kualitas susu secara mikrobiologis dapat dilihat berdasarkan jumlah cemaran bakteri aerob yang terdapat didalamnya. Namun, untuk menentukan potensi susu sebagai probiotik harus ditunjukkan oleh jumlah bakteri asam laktat yang dimiliki susu tersebut. Hasil analisa bakteri asam laktat pada susu segar di Sumatera Barat dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 10. Rataan Total Koloni Bakteri Asam Laktat Susu Kerbau, Sapi Dan Kambing di Sumatera Barat

Sampel	Total BAL ($\times 10^7$)
Susu kerbau	36,8 \pm 17,57
Susu sapi	0,84 \pm 0,18
Susu kambing	57,25 \pm 8,89

Data pada Tabel 20 menunjukkan bahwa pada susu sapi, kambing dan susu kerbau segar juga terdapat bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) banyak tersebar di alam dan terjadi secara alami karena mikroflora asli dalam susu mentah adalah bakteri Gram positif yang sangat berperan aktif dalam pengolahan pangan maupun fermentasi pakan (Guessas dan Kihal 2004). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri gram positif, non spora, berbentuk bulat atau batang, yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber alam, seperti dari tanah, tanaman, air, limbah dan juga dari saluran genital dan pencernaan manusia dan hewan Sujaya *et al.*, (2016). Pemanfaatan BAL saat sekarang ini tidak hanya untuk memproduksi bahan pangan seperti yang sudah banyak dilakukan sebagai starter fermentasi bahan pangan dalam pembuatan keju, yoghurt dan juga dadih tetapi BAL dimanfaatkan sebagai probiotik yang memiliki banyak fungsi terutama berperan penting dalam saluran pencernaan. Sejalan dengan pernyataan Noordiana *et al.*, 2013 bakteri asam laktat juga di golongkan sebagai bakteri probiotik yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroorganisme tertentu, toleran terhadap asam lambung dan tidak berbahaya.

3.3 Hasil Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Susu

Identifikasi isolat BAL dengan mempergunakan ciri-ciri morfologi, serta pembentukan gas dari glukosa hanya dapat mengelompokkan BAL sebagai *Lactobacillus* spp. (untuk isolat dengan bentuk batang), *Pediococcus* spp. (untuk isolat dengan bentuk bulat/*coccus*), *Lactococcus/Enterococcus* spp. (untuk isolat dengan bentuk *coccol bacil*) (Sujaya *et al.*, 2016). Karakteristik morfologi isolat bakteri asam laktat diketahui melalui pewarnaan gram.

Identifikasi bakteri asam laktat pada susu segar yang diperoleh dari wilayah Sumatera Barat dilakukan melalui beberapa tahapan uji konvensional yaitu penentuan morfologi isolat, uji pewarnaan gram dan uji katalase. Hasil identifikasi bakteri asam laktat secara konvensional yang berpotensi sebagai probiotik dapat dilihat Tabel 21.

Tabel 11. Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat Susu Segar di Sumatera Barat

Sampel	Isolat	Bentuk	Ukuran	Warna	Elevasi	Pewarnaan gram	Uji Katalase
Susu Kerbau	BM 1.1.	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	BM 2.1	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	BM 3.2	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	BM 4.2	Batang	2 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
Susu Sapi	CM 1.1	Batang	2 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	CM 1.2	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	CM 2.1.	Batang	2 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	CM 2.2	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
Susu Kambing	GM 1.1	Batang	2 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	GM 2.1	Batang	1 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	GM 3.1	Batang	3 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif
	GM 4.2	Batang	2 mm	Krem	Cembung	Positif	Negatif

BM = Isolat BAL susu kerbau, CM= Isolat BAL susu sapi an GM= Isolat BAL susu kambing

Pada Tabel 21 terlihat bahwa morfologi BAL dari susu sapi, kerbau dan kambing di Sumatera Barat memiliki variasi diameter koloni dengan warna koloni krem dan elevasi cembung. Sedangkan berdasarkan hasil uji pewarnaan gram, semua isolat menunjukkan hasil gram positif serta uji katalase negatif (Melia *et al.*, 2017).

Prinsip isolasi BAL adalah mendapatkan koloni tunggal yang akan di uji untuk mengetahui sifat-sifat BAL. Sebanyak 4 isolat telah diisolasi

dari masing – masing susu (kambing, sapi, kerbau). Identifikasi BAL ditunjukkan melalui uji pewarnaan gram dan uji katalase serta ciri – ciri morfologi masing-masing isolat (bentuk, ukuran, elevasi, warna). Semua isolat memperlihatkan hasil uji pewarnaan gram berwarna ungu dan berbentuk batang. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang diuji merupakan gram positif. Sementara uji katalase pada semua isolat tidak memperlihatkan adanya gelembung gas setelah ditetesi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hasil ini menunjukkan bahwa isolat bersifat katalase negatif. Menurut Wibowo (1988), bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida. Ditambahkan Axelsson *et al.*, (2004), bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif berbentuk batang atau bulat dan bersifat katalase negatif.

PERTANYAAN

1. Bagaimana metode menentukan adanya Bakteri Asam Laktat pada susu.
2. Jelaskan faktor apa saja yang mempengaruhi perbedaan jumlah BAL pada susu sapi, kambing dan kerbau di Sumatera Barat.
3. Jelaskan perbedaan hasil pengamatan BAL secara makroskopis dan mikroskopis.

DAFTAR PUSTAKA

- Axelsson L. 2004. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. Marcel Dekker Inc, New York. 1-73.
- Arthur C.O dan Satu V, 2004. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In Lactic Acid Bacteria : Microbiological and Functional Aspect. Salminen, S., AV Wright and A. Ouwehand. (Eds). Marcel Dekker, New York. pp. 375-395
- Bibek, R dan A. Bhunia, 2008. Fundamental Food Microbiology. Fourth Edition. CRC Press, Taylor and Francis group, New York.
- Cleveland, J., T.J. Montville, I.F. Nes, and M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocins : Safe, Natural, Antimicrobials for Food Preservation. International Journal Food Microbiology 71, pp. 1-20
- Galvez, A., H. Abriouel, R.L. Lopez and N.B. Omar. 2007. Bacteriocin-based Strategies fo Food Biopreservation. Inetrnational Journal fo Food Microbiology 120, 51-70

- Guessas B, Kihal M. 2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. *AJ Biotechnol*3(6): 339-342.
- Harley and Prescott, 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology*. Fifth edition. The Mc.Graw-Hill. New York
- Karthikeyan, V. and S.W., Shantosh. 2009. Study of Bacteriocin as Food Preservative and The *L. acidophilus* Strain as Probiotic. *Pakistan Journal Nutrition* 8(4) : 335-340
- Kusumawati, N., 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Listeriamonocytogenes* Pada Bahan Pangan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* Vol 1(1).Hal. 14-28
- Melia, S., Ferawati, dan Yuherman. 2017. Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik yang Diisolasi dari Susu Segar. Laporan Penelitian PDUPT. Universitas Andalas.
- Noordiana, N.Fatimah, A.B., and Mun A.S., 2013. Antibacterial Agent Produces by Lactic Acid Bacteria Isolated from Threadvin Salmon and Grass shrimp, *International Food Research Journal* 20(1) : 117-124
- Nuryady, M.M., T. Istiqamah, R. Faizah, S.Ubaidillah, Z. Mahmudi dan Sutoyo. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal yoghurt. *UJEJ Jurnal* 1(5) : 1-11
- Purwati, P., S. Syukur, Husmaini, H. Purwanto dan R.P. Pasaribu, 2014. Molekuler Karakteristik Bakteri Asam Laktat Isolate Dadih Air Dingin Kabupaten Solok Sumatera Barat. *Jurnal* Vol. 40. No.2. Hal. 134-146
- Salminen, S, Atte, V.W and Arthur O, 2004. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel
- Sharma, R., Bhagwan S.s., Gulab, S.T, Pallavi, J., Sangeeta, P, Anjana, S., dan Prakash S.B., 2013. Characterization of Lactic Acid Bacteria from Raw Milk Sample of Cow, Goat, Sheep, Camel and Buffalo With Special Elucidation to Lactic Acid Production. *British Microbiology Research Journal*, 2(4) : 743-752
- Sujaya, N.I., Komang, A. N., Aryantini.D.P.N., Wayan, N., Yan, R., Yoshitake, O., Fukuda, K., Tadashu U., Yuji O. 2016. Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From Bali Cattle's Raw Milk. *Jurnal Veteriner* 17 (2): 155-167

- Syukur, S., L.S. Utami., E. Purwati, Urnenrni dan Jamsari, 2011. Screening and In vitro Antimikrobia, Protease activities From Lactic acid Bacteria Associated With Green Cacao Fermentation in West Sumatera, Indonesia. Prosiding Seminar Internasional HKI, pekanbaru
- Sunaryanto R., dan B. Marwoto. 2012. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia, Vol.14 No.3. Hal. 228-233
- Surono., I.S. 2004. Probiotik ; Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Mandiri, Jakarta
- Trisna, W.N., 2012. Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) asal Dadih Dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolesterol Daging Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatera Barat. Pasca Sarjana Universitas Andalas, Padang
- D'Ambrosio, C., Arena, S., Salzano, A. M., Renzone, G., Ledda, L. and Scaloni, A. 2008. A proteomic characterization of water buffalo milk fractions describing PTM of major species and the identification of minor components involved in nutrient delivery and defense against pathogens. *Proteomics* 8 (17): 3657–3666.
- Khan, M. A. S., Islam, M. N., Siddiki, M. S. R. 2007. Physical and chemical composition of swamp and water buffalo milk: a comparative study. *Italian Journal of Animal Science* 6, (Suppl. 2): 1067–1070.

BAB IV

BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PROBIOTIK

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa mengetahui persyaratan yang memenuhi kriteria BAL sebagai probiotik.
2. Mahasiswa terampil menguji ketahanan BAL terhadap garam empedu.
3. Mahasiswa mampu menjelaskan tahapan seleksi bakteri probiotik.

Menurut Organisasi Pangan dan Pertanian PBB (FAO) dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup, yang bila diberikan dalam jumlah yang cukup memberikan manfaat kesehatan pada host (FAO/WHO,2006). Probiotik diklasifikasikan sebagai “*generally regarded as safe*” (GRAS) dan efek samping yang jarang dilaporkan (Tadesse *et al.*, 2005).

Salminen *et al.*, (2004), menjelaskan pentingnya viabilitas probiotik, yaitu preparasi mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan, dan efek menyehatkan dan keamanannya teruji pada manusia secara uji klinis. Efektifitas fungsi probiotik bersifat spesifik terhadap strain dan dosisnya. Probiotik yang memenuhi kriteria tersebut secara umum merupakan bakteri bakteri asam laktat terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, namun ada beberapa strain *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Enterococcus* dan khamir yang berpotensi sebagai strain probiotik. Selanjutnya, Surono (2004) dalam Susanti, Kusumanigtyas, dan Illaningtyas (2007) menjelaskan probiotik, berdasarkan definisi yang umum diterima, merupakan suplemen pangan yang berasal dari mikroba hidup yang menguntungkan kesehatan inangnya dengan cara memperbaiki komposisi mikroba usus. Bakteri asam laktat, khususnya bersifat sebagai probiotik, banyak digunakan sebagai suplemen pangan dengan berbagai manfaat bagi kesehatan. Bakteri ini, khususnya dari golongan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* memiliki wefek positif seperti aktivitas antikolesterol, efek stimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare serta aktivitas anikolesterol, efek simulasi system imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah penyakit kanker khususnya kanker usus.

Manfaat probiotik bagi kesehatan manusia adalah terutama untuk saluran pencernaan, juga mencegah kanker usus, penurunan kadar kolesterol, pencegahan bakteri patogen, menstimulir respon imun, megurangi sembelit, pencegah diabet, meningkatkan daya cerna laktosa pada penderita intoleransi laktosa (Salminen *et al.*, 2004 dan Upadhyay *et al.*, 2012). Seleksi probiotik asal Indonesia yang aman, toleransi terhadap kondisi gastrointestinal, kemampuan untuk menempel pada mukosa gastrointestinal (Collado *et al.*, 2007). Kriteria seleksi probiotik menurut Surono (2016) dan Kechagia *et al.*, (2013), dalam saluran pencernaan adalah kemampuan daya simpan probiotik hidup pada berbagai kondisi penyimpanan, toleransi terhadap asam lambung pada pH 2.0 selama 2 jam, toleransi terhadap garam empedu pada konsentrasi fisiologis, kemampuan memanfaatkan prebiotik untuk tumbuh dan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik.

Surono (2016), lebih lanjut menyatakan bahwa dalam seleksi strain probiotik, khususnya untuk bahan pangan, bakteri harus dapat digabungkan dalam makanan dan memberikan sifat sensoris yang baik, tanpa menghasilkan aroma yang menyimpang atau tekstur yang tidak diinginkan. Sehingga diperlukan untuk memastikan stabilitas sifat bakteri probiotik dalam bahan makanan selama proses pengolahan dan penyimpanan. Kriteria seleksi probiotik pada proses produksi antara lain : kemampuan untuk tumbuh dengan cepat dalam jumlah banyak pada media fermentasi sederhana dan murah, kemampuan untuk tumbuh dan bertahan pada kondisi aerobik, kemampuan untuk segera aktif pada saat diaplikasikan dalam proses pengolahan produk olahan susu, dan kemampuan untuk bertahan dalam berbagai jenis matriks makanan dan proses pengolahan pangan. Sedangkan kriteria seleksi probiotik selama masa simpan dan transit dalam saluran pencernaan yaitu : Ketahanan simpan probiotik hidup pada berbagai kondisi penyimpanan, toleransi terhadap asam lambung pada pH 2.0 selama 2 jam, toleransi terhadap garam empedu pada konsentrasi fisiologis, kemampuan memanfaatkan prebiotik untuk tumbuh dan resistensi terhadap antiobiotik.

Berbagai jenis bakteri digolongkan sebagai probiotik, namun tidak semua bakteri baik dapat dimanfaatkan sebagai agen probiotik. Jenis bakteri probiotik yang dipilih harus mempunyai minimal satsuyarat berikut ini:1) memiliki aktivitas antimikroba, yaitu probiotik dapat berperan sebagai antibiotik alami. Diantara beberapa BAL mampu memproduksi asam-asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Senyawa bakteriosin mampu membunuh bakteri lain. 2) Mampu bertahan hidup disaluran pencernaan seperti asam

lambung, cairan empedu, dan getah pankreas. Bila tidak memenuhi persyaratan ini, maka bakteri tersebut akan mati sebelum mencapai usus.3) memiliki aktivitas anti karsinogenik. Adanya senyawa karsinogenik seperti nitrosamin yang masuk ke saluran pencernaan, akan dapat dicegah penyerapannya oleh bakteri tersebut dengan membentuk selaput protein dan vitamin.4) Mampu berkembang biak dalam saluran pencernaan. Bakteri probiotik harus memiliki kemampuan untuk bersimbiosis dengan flora usus, sehingga dapat melakukan proses yang diinginkan dan tidak cepat keluar bersama feces. 5) Mampu meningkatkan absorpsi (penyerapan) di usus halus. Hal tersebut juga dijelaskan bahwa mikroba yang diinginkan menjadi probiotik harus mempunyai karakteristik meliputi: 1) mempunyai kemampuan bertahan hidup untuk melakukan kolonisasi, dan melakukan metabolisme di saluran pencernaan,2) mampu mempertahankan keseimbangan mikroflora usus melalui kompetisi dan inhibisi mikroba patogen,3) dapat menstimulasi bangkitnya pertahanan imun,4) bersifat non-patogenik dan non-toksik,serta 5) harus mempunyai karakteristik teknologi yang baik,yaitu mampu bertahan hidup secara optimal dan stabil selama penyimpanan dan penggunaan dalam bentuk preparat makanan yang diinginkan dan dikeringkan, agar dapat disediakan dalam jumlah besar untuk industri (Fuller, 2002) dan Widodo (2003).

Menurut Lopez (2000), mekanisme interaksi metabolik mikroba dalam saluran pencernaan dapat dijelaskan sebagai berikut:1) adanya kompetisi antara probiotik dan mikroba non indigenous terhadap zat makanan dalam jumlah yang terbatas, 2) elaborasi probiotik terhadap metabolit sehingga menghambat multiplikasi mikroba non indigenous, 3) membuat kondisi lingkungan probiotik yang dapat memperkecil jumlah mikroba non indigenous,4) adanya kompetisi antara probiotik dengan mikroba non indigenous terhadap tempat mukosa intestina untuk beradesi. Sedangkan menurut Surono (2004), mekanisme kerja probiotik adalah 1) antagonis langsung melalui zat antimikroba yang dihasilkan probiotik, 2) melalui kompetisi terhadap reseptor adhesi dan nutrisi, 3) sifat adhesi bakteri probiotik, dan 4) menstimulasi sistem imun.

Berdasarkan literatur tersebut, dapat diketahui bahwa aktivitas antimikroba dan resisten terhadap saluran pencernaan merupakan faktor penting dalam menentukan mikroorganisme sebagai kandidat probiotik. Gambar 22 menjelaskan tahapan yang disarankan untuk memperoleh galur yang dinyatakan sebagai probiotik berdasarkan petunjuk WHO-FAO (2002) dan Fontana *et al.*,(2013).

Sumber	<ul style="list-style-type: none"> • ASI • Makanan Fermentasi • Mikrobiota Pencernaan
Identifikasi	<ul style="list-style-type: none"> • Metode fenotipik • Metode genotipik
Studi <i>in vitro</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Resisten terhadap keasaman pH lambung • Resisten terhadap garam empedu • Adesi terhadap mukus dan/atau sel epitel manusia • Aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen
Pertimbangan keamanan	<ul style="list-style-type: none"> • Penentuan pola resistensi antibiotik • Pengukuran aktivitas metabolit tertentu (misalnya produksi D-laktat) • aktivitas hemolitik
Uji pra-klinis (studi <i>in vivo</i> pada hewan)	<ul style="list-style-type: none"> • Uji keamanan strain probiotik
Uji klinis pada manusia	<ul style="list-style-type: none"> • Uji efek samping strain probiotik terhadap manusia • Uji efek menguntungkan bagi kesehatan manusia

Gambar 22. Tahapan Seleksi Bakteri Probiotik
(Modifikasi FAO-WHO, 2002 dan Fontana *et al.*, 2013).

4.1 Ketahanan BAL Terhadap Asam Klorida

Resistensi BAL terhadap pH rendah merupakan kriteria umum yang harus dimiliki galur probiotik agar dapat dipastikan keberadaannya dan fungsionalitasnya (FAO-WHO, 2002). Secara *in vitro*, perlakuan inkubasi kultur bakteri pada kondisi pH 2-4 selama 70-180 menit merupakan teknik seleksi mikroorganisme sebagai probiotik yang dianjurkan (Sanz, 2006).

Ada beberapa karakteristik yang harus dipertimbangkan untuk menentukan apakah suatu mikroba berpotensi untuk menjadi kultur probiotik. Diantaranya adalah ketahanan terhadap asam dan garam empedu, sebab untuk dapat bertahan tumbuh di dalam saluran pencernaan, kultur probiotik harus melewati beberapa rintangan seperti keasaman lambung yang tinggi dan sekresi garam empedu pada usus yang dapat berpengaruh buruk bagi kultur mikroba. Disamping itu bakteri tersebut juga harus mampu bersaing dengan enteric pathogen dalam saluran pencernaan (Giliand *et al.*, 1984 dan Salminen, 1993 dalam Susanti *et al.*, 2007).

Berbagai cairan pencernaan disekresikan oleh organ-organ pencernaan, dan sebagian besar dari cairan ini menghambat perjalanan bakteri dari mulut ke usus besar. Asam lambung disekresikan setiap hari 2.000 – 3.000 ml dalam bentuk hidroklorat, mukus dan enzim-enzim pencernaan, seperti enzim pepsin. Alkohol dan kafein menstimulir mukosa lambung dan memacu sekresi asam lambung. Setelah bakteri lolos dari lambung, selanjutnya masuk ke saluran usus bagian atas dimana garam empedu disekresikan ke dalam saluran pencernaan. Kemudian, bakteri yang lolos pada tahap ini akan berkolonisasi pada epitel saluran usus bagian bawah, sehingga diharapkan strain probiotik harus bisa bertahan pada kondisi asam selama 90 menit, tahan asam empedu, melekat pada epitelium (Surono, 2016). Hawaz(2014) menyatakan bahwa *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacilluslactis*, dan *Lactobacillus rhamnosus* dapat bertahan hidup pada pH 3 selama 3 jam inkubasi.

Cotter dan Hill (2003) meyakini bahwa mekanisme homeostatik instrinsik yang dapat menyebabkan BAL memiliki kemampuan bertahan pada pH rendah. Mekanisme yang terjadi pada BAL yaitu sistem Glutamat dekarboksilase (GAD). Sistem glutamat dekarboksilase merupakan suatu mekanisme pertahanan sel sebagian BAL terhadap kondisi pH yang rendah. *Lactobacillus* sp merupakan salah satu kelompok BAL yang dilaporkan memiliki mekanisme sistem GAD. Mekanisme sistem GAD adalah sebagai berikut : setelah mengkonsumsi glutamat melalui suatu transporter spesifik, terjadi dekarboksilasi glutamat didalam intraseluler, menjadi produk γ -aminobutyrat (GABA) yang dikeluarkan dari dalam sel oleh suatu antiporter, sehingga terjadi peningkatan pH intraseluler.

Uji resistensi isolat BAL terhadap pH rendah dilakukan dengan medium MRS broth yang diatur pada pH 2 dengan menggunakan HCL5N. MRS broth (Merck, pH5.5) digunakan sebagai medium kontrol. Kultur isolat BAL diinkubasi secara anaerob pada media MRSB pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian, kultur isolat BAL diinkubasi secara anaerob untuk uji resistensi terhadap pH rendah selama 90 - 180 menit pada suhu 37°C. Kekeruhan (tubiditas) kulturisolat BAL di ukur spektrofotometer pada 600nm (Rubio,*et.al*,2013). Isolat BAL dengan persentase resistensi diatas 40% dinyatakan bertahan hidup padap H2 (Bezkorovainy, 2001) dan dapat dilanjutkan untuk tahapan selanjutnya. Persentase resistensi isolat BAL dihitung dengan rumus berikut (Amraii, *et.al*,2014):

$$\text{Persentasi resistensi} = \frac{\text{OD}_{\text{perlakuan}}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

unand)

Keterangan:

OD perlakuan = Nilai *optical density* dari pada pH 2

OD kontrol = Nilai *optical density* dari kontrol

Potensi bakteri asam laktat sebagai probiotik juga ditunjukkan melalui ketahanan BAL terhadap pH rendah. BAL yang diisolasi dari susu sapi, kambing dan kerbau di Sumatera Barat menunjukkan toleransi yang bervariasi terhadap pH 2 dengan nilai OD 600 nm. Rata-rata isolat BAL memiliki ketahanan terhadap pH 2, yang berkisar antara 43.81% - 99.75%

Hal ini menunjukkan bahwa uji ketahanan terhadap pH yang rendah merupakan salah satu sifat yang penting dalam menentukan karakteristik dari probiotik. Ini disebabkan oleh bakteriasam laktat yang memiliki enzim protease yaitu aminopeptidase yang mampu mempengaruhi adaptasi dan pertumbuhan bakteri asam laktat (De angeliset *al.*, 2001).

4.2 Ketahanan BAL Terhadap Garam Empedu

Seleksi BAL berdasarkan resistensinya terhadap garam empedu juga merupakan kriteria umum yang harus dimiliki galur kandidat probiotik (FAO- WHO, 2002). Konsentrasi garam empedu manusia berada pada rentang 0,3%-0,5% (Dunne, *et.al*, 2001). Pada manusia normal, waktu yang diperlukan untuk mencernamakanan dari mulut sampai usus halus adalah antara 4-6 jam akhirnya di usus besar selama 24-48 jam (Bourlioux *et.al.*, 2003).

Asam empedu terbentuk di hati dan disalurkan ke usus melalui usus dua belas jari. Asam dan garam empedu merupakan larutan iso-osmotik ekstraseluler yang disekresikan setiap hari sebanyak 500-700 ml. Garam empedu banyak mengandung kation Na⁺, dan anion anorganik seperti klorida dan asam karbonat, serta protein seperti albumin, IgA dari plasma dan 5'-nukleotida dari sel hati. Asam empedu mengandung garam empedu, sulfat steroid dan senyawa beracun lainnya, serta lipid seperti fosfolipid dan kholesterol (Boyer *et al.*, 1992) dan Corzo and Gilliland (1999).

Melia *et al.*, (2017) menyatakan bahwa terdapat perbedaan toleransi isolat BAL yang diisolasi dari susu segar terhadap garam empedu, yaitu berkisar antara 32.235 – 70.81%. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik memiliki manfaat dan dapat bertahan dalam jumlah yang cukup untuk mempengaruhi metabolisme mikroflora usus. Tingkat kelangsungan hidup diperkirakan mencapai 20-40% untuk strain yang berbeda, hambatan utama untuk bertahan hidup adalah keasaman lambung dan garam empedu (Bezkorovainy, 2001). Pengaruh bakteri probiotik terhadap penurunan kadar kolesterol dikarenakan kemampuannya dalam mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi asam empedu. Bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan spesifik akan bekerja spesifik akan bekerja efektif apabila dapat bertahan dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu, isolat BAL tersebut akan mampu bertahan terhadap garam empedu dan kondisi asam lambung apabila dikonsumsi (Syukur dan Purwati, 2013).

Asam empedu diserap kembali dari ileum bagian bawah dan kembali ke hati, untuk disekresikan lagi ke empedu. Asam empedu yang tidak diserap kembali dan lolos ke usus besar didekongugasi oleh bakteri usus menjadi asam empedu sekunder, yaitu asam deoksikholat dari asam kholat, dan asam lithokholat dari chenodeoksikholat. Asam deoksikholat diserap dari mukosa usus besar, dan kembali terkongugasi di hati dan disekresikan dalam empedu. Mekanisme penyerapan, sintesis kembali dan sekresi asam empedu di usus halus dan usus besar dikenal sebagai sirkulasi hepatic (Tadesse, 2012).

Toleransi terhadap asam lambung merupakan syarat penting suatu isolat agar bisa menjadi probiotik. Hal ini disebabkan bila isolat tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan manusia, salah satu kondisi yang menekan adalah pada saat berada di lambung, yang memiliki pH sekitar 2,5, sehingga diharapkan bakteri asam laktat mampu hidup pada kondisi tersebut (Begley *et al.*, 2006). Berrada *et al.*, (1991), menyatakan bahwa waktu yang diperlukan oleh bakteri mulai dari masuk hingga keluar dari lambung adalah 90 menit. Isolat yang diseleksi sebagai kandidat probiotik diharapkan mampu bertahan di dalam lambung paling sedikit 90 menit.

Berdasarkan penelitian Begley *etal.* (2006), *L. plantarum* memiliki aktivitas enzim BSH, sebab pada media MRS yang diberi garam empedu dan diinokulasikan dengan *L. plantarum* terjadi presipitasi asam empedu tidak terkongugasi. Enzim BSH menguraikan asam empedu terkongugasi menjadi asam empedu yang tidak terkongugasi dan melepaskan asam amino glisin atau taurin.

Toleransi bakteri asam laktat terhadap garam empedu, juga merupakan salah satu syarat probiotik. Agar bakteri asam laktat dapat tumbuh dan bertahan dalam saluran pencernaan, maka harus mampu melewati bagian atas usus halus yang berisi cairan garam empedu yang disekresikan ke dalam usus (Begley *et al.*, 2006). Seperti ketahanan terhadap asam, menurut (Mojgani *et al.*, 2015), bakteri asam laktat masih toleran terhadap garam empedu hingga 0,5%. Selanjutnya (Zhang *et al.*, 2016) dan (Torshizi *et al.*, 2008), bakteri asam laktat mampu bertahan pada MRS broth yang ditambahkan 0,3% garam empedu (*oxgall*). Amraii *et.,al* (2014) menyatakan bahwa *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari produk olahan susu memiliki persentase resistensi antara 94,08% - 152,93% terhadap 0,2% garam empedu dengan inkubasi selama 2 jam pada suhu 37⁰C. Selain itu, Nurnafi (2016) menyatakan bahwa BAL yang diisolasi dari bekasam memiliki ketahanan hidup mencapai 87,63% terhadap 0,5% garam empedu dengan inkubasi selama 4 jam pada suhu 37⁰C.

Uji resistensi isolat BAL terhadap garam empedu dilakukan dengan medium MRS broth yang ditambahkan oxgaal (0,3%). MRS broth tanpa penambahan oxgaal digunakan sebagai medium kontrol. Kultur isolat BAL diinkubasi secara anaerob pada media MRSB pada suhu 37⁰C selama 18 - 24 jam. Kemudian, kultur isolat BAL dinkubasi secara anaerob untuk uji resistensi terhadap garam empedu selama 4 jam pada suhu 37⁰C (Hawaz, 2014). Kekeruhan (tubiditas) kultur isolat BAL diukur spektrofotometer pada 600 nm (Rubio, *et.al*, 2013). Isolat BAL dengan persentase resistensi diatas 20% dinyatakan dapat bertahan hidup terhadap pengaruh garam empedu (Bezkorovainy, 2001), sehingga dilanjutkan untuk tahapan selanjutnya. Persentase resistensi isolat BAL di hitung dengan rumus berikut (Idoui, *et.al.*, 2013).

$$\text{Persentasi resistensi} = \frac{\text{OD}_{\text{perlakuan}}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

Keterangan:

OD_{perlakuan} = Nilai *optical density* dari pada perlakuan (garam empedu)

OD_{kontrol} = Nilai *optical density* dari kontrol

4.3 Sensitivitas Isolat BAL Terhadap Antibiotik

Agar dapat dimanfaatkan sebagai probiotik, BAL yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan inang harus menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotik (Lim dan Im, 2009). Untuk menguji resistensi terhadap antibiotik, antibiotik discs diletakkan pada permukaan agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam according to (Madhava Rao *et al.*, 2013). Banyak jenis antibiotik yang bisa digunakan untuk pengujian resistensi BAL terhadap antibiotik, diantaranya adalah: amphotericin (10 µg), chloramphenicol (30 µg), erythromycin (15 µg), penicillin (10µg) dan tetracycline (30 µg). Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dan diukur berdasarkan *Standar for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (Prescott *et al.*, 2002).

Sensitivitas isolat BAL terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram pada MRS agar. Kultur BAL ditumbuhkan pada media MRSB dan diinkubasi pada suhu 37°C pada *anaerobic jar* dalam inkubator selama 18-22 jam. 100 µL kultur bakteri ditanam pada MRSagar dengan metode *spreading*. Cakram yang telah ditetesi 10 µL antibiotik diletakkan diatas permukaan agar. Kemudian diinkubasi pada 37°C selama 48 jam (Amraii, *et.al*, 2014). Zona inhibisi yang terbentuk diukur dan dianalisis. Pola sensitivitas diuji menggunakan beberapa antibiotik yakni tetracycline, penicillin, ampicillin, erythromycin, dan chloramphenicol. Isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik akan resisten terhadap antibiotik dan dapat dimanfaatkan untuk mengembalikan mikrobiota pencernaan setelah pengobatan dengan antibiotik (Gueimonde, *et.al.*, 2013).

4.4 Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat

Penurunan jumlah bakteri patogen yang dipengaruhi BAL dalam usus manusia. Hipotesis tersebut yakni (1) sel BAL dapat mengganti posisi penempelan bakteri patogen pada usus dan (2) komponen antimikroba yang dihasilkan BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Bernett *et al.*, 1997). Sifat antimikroba merupakan suatu kemampuan antagonistik suatu senyawa kimia untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Penghambatan BAL terhadap mikroorganisme yang lainnya diduga karena BAL menghasilkan produk metabolit yang bersifat antimikroba antara lain diasetil, hidrogen peroksida, asam-asam organik dan bakteriosin (Surono, 2004).

Daya hambat bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu segar terhadap bakteri *E Coli O157:H7* berkisar antara $6,33 \pm 0,58$ sampai $26,33 \pm 1,58$. Nilai daya hambat tertinggi terhadap bakteri *E Coli O157:H7* dihasilkan oleh isolat susu kambing. Pelczar *et al.* (1993) menyatakan bahwa mekanisme perusakan dinding sel oleh senyawa antimikroba dapat berlangsung secara efektif didalam menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba sehingga berakibat menghambat proses pembentukan dinding sel atau menyebabkan lisis pada dinding sel yang sudah terbentuk, dan penurunan permeabilitas membran sitoplasma sehingga terlepasnya zat nutrisi dari dalam sel. Rusaknya membran sitoplasma dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan hingga matinya sel.

Pada umumnya bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dari pada bakteri Gram positif. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks yakni lapisan luar berupa lipo protein, lapisan tengah berupa polisakarida dan lapisan paling dalam berupa peptidoglikan (5-10%). Sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana (90% dinding sel nyaterdiri dari peptidoglikan), sehingga senyawa antimikroba lebih mudah masuk ke dalam sel. Cell-free supernatans (CFS) untuk uji antibakteri dipersiapkan menumbuhkan isolat BAL di dalam MRS broth pada suhu 37°C selama 24 jam dan disentrifugasi pada 12,000 rpm, selama 10 menit. Aktivitas antimikroba dari CFS (*cell free supernatant*) dari BAL diukur dengan menggunakan metode *well diffusion method* (Yang *et al.*, 2012). CFS (50 µl) dimasukkan dalam sumur agar (diameter 6 mm) yang mana, sudah ditanam dengan bakteri indikator. Plate diinkubasi pada kondisi pertumbuhan indikator mikroorganisme hingga terbentuk zona bening disekitar well setelah 24 jam. Diameter zona bening diukur and recorded in milimetre (mm). Bakteri indikator yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan *Escherechia coli O157: H7*.

Uji anti bakteri supernatant isolat BAL dilakukan terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Listeria monocytogenesis*. Kultur BAL ditumbuhkan dalam MRS broth selama 18 - 22 jam. Kemudian supernatan dipisahkan dari sel dengan sentrifugasi dengan kecepatan 10.700 rpm selama 5 menit pada suhu 27°C. *Nutrient agar* dituang sebanyak 20 ml dan dinokulasi dengan 0,2% (v/vmedia) bakteri uji yang sudah diremajakan selama semalam. Setelah MRS Agar mengeras, "well" atau sumur dibuat dengan diameter 6 mm. Kemudian diinjeksikan 50 µl supernatan BAL ke dalam setiap sumur.

Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C secara *anaerob* selama 14-16 jam dan diukur diameter zona inhibisi (Khaushik, *et.al*, 2009).

4.5 Persentase Hidrofobisitas Bakteri Asam Laktat

Sifat permukaan bakteri berkaitan dengan kemampuan bakteri untuk melekat pada substrat spesifik yang digunakan pada uji *in vitro*. Bakteri hendaknya dapat melekat pada jaringan inang agar dapat membentuk koloni, sehingga mencegahnya tereliminasi oleh gerakan peristaltik saluran gastrointestinal (GIT). Ketika melekat pada GIT inang, probiotik dapat menghambat bakteri patogen dengan menghambat interaksi bakteri patogen dengan reseptor sel tertentu. Permukaan hidrofobisitas bakteri dapat mempengaruhi kemampuan adhesi dan autoagregasi bakteri ke permukaan yang berbeda (Kos *et al.*, 2003).

Hidrofobisitas terhadap hidrokarbon adalah teknik yang cepat dan sederhana untuk mengukur hidrofobisitas permukaan bakteri secara non spesifik (Rosenberg *et al.*, 1980). Dalam hal ini, uji hidrofobisitas dibagikan menjadi dua jenis: *Contact Angle Measurement* (CAM) dan *Microbial Adhesion to Hydrocarbons* (MATH). Hidrofobisitas diukur dalam bentuk pelekatan, yaitu bakteri hidrofobik dalam sistem *in vitro* dianggap sangat mampu melekat pada jaringan (Otero *et al.*, 2004).

Diantara pelarut organik yang digunakan untuk MATH, xilen adalah pelarut non polar hidrokarbon yang dapat digunakan. Meskipun hidrofobisitas tinggi atau sedang, karakteristik permukaan bakteri sangat berbeda antara isolat dan setiap bakteri menunjukkan tempelan atau pola polaritas yang berbeda dipermukaan bakteri.

Uji hidrofobisitas isolat BAL dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui sifat adhesi dari isolat BAL (Collado and Sanz, 2007). Kultur BAL ditumbuhkan pada media MRSB dan diinkubasi pada suhu 37°C pada *anaerobic jar* dalam inkubator selama 18-22 jam. Sel BAL dipanen dengan menggunakan sentrifuge pada kecepatan 10.000 g dalam 5 menit. Kemudian sel bakteri dicuci dua kali menggunakan PBS pH 7 dan disuspensikan pada 0.2-0.4 pada 600 nm (A_0). Xilen digunakan untuk menentukan adhesi bakteri terhadap hidrokarbon. Kemudian 3 mL suspensi BAL dicampurkan menggunakan vortex selama 60 detik dengan 1 mL xilen. Setelah inkubasi selama 2 jam pada 37°C, fasa aqueous yang berada dibawah diambil dan diukur O.D. pada 600 nm (A_1) (Meira *et al.*, 2012).

$$\text{Persentasi adhesi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \%$$

Keterangan:

- A_0 = OD awal, yakni OD suspensi isolat BAL sebelum penambahan xilen
 A_1 = OD akhir, yakni OD suspensi isolat BAL setelah penambahan xilen dan inkubasi

PERTANYAAN

1. Bagaimana persyaratan yang memenuhi kriteria BAL sebagai probiotik.
2. Bagaimana menguji ketahanan BAL terhadap garam empedu.
3. Jelaskan tahapan seleksi bakteri probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amraii, H. N., H. Abtahi, P. Jafari, H. R. Mohajerani, M. R. Fakhroleslam, dan N. Akbari. 2014. Invitrostudy of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from raditional Dairy Products. *Jundushapurj. Microbiole1016*. 7(6): e10168.
- Begley, M., Hill, C., Gahan, C.G., 2006. Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1729–1738.
- Bernett MF, DBrassart, JRN eeser danAL Servin.1997. Adhesionof human *Bifidobacteria* strain stocultured human intestinal epithelial cells and in hibition of Enteropathogen - cellinteraction. *Applied And Environmental Microbiology*. 59 (12): 4121 - 4128.
- Berrada, N., Lemeland, J.-F., Laroche, G., Thouvenot, P., and Piaia, M., 1991. Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.* 74, 409–413.
- Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. 2003. Theintestineandits microflora arepartners forth eprotection of the host: reporton the Dan one symposium ‘The Intelligent Intestine’,held in Paris, June14, 2002. *Am J Clin Nutr* 78: 675-683.
- Boyer, J.L., Graf, J., Meier, P.J., 1992. Hepatic transport systems regulating pHi, cell volume, and bile secretion. *Annu. Rev. Physiol.* 54, 415–438.

- Collado, M.C., Sanz, Y., 2007. Induction of acid resistance in *Bifidobacterium*: a mechanism for improving desirable traits of potentially probiotic strains. *J. Appl. Microbiol.* 103, 1147–1157.
- Corzo, G., and Gilliland, S.E., 1999. Measurement of Bile Salt Hydrolase Activity from *Lactobacillus acidophilus* Based on Disappearance of Conjugated Bile Salts. *J. Dairy Sci.* 82, 466–471.
- Cotter PD, Hill C. 2003. Surviving the acid test: responses of Gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol Mol Biol Rev* 67: 429-453.
- De Angelis, M., A, Corsetti, N. Tosti, J. Rossi, M. R. Corbo, and Gobbetti. 2001. Characterization of non-starter lactic acid bacteria from Italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic, and cell wall protein analyses. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2011-2020
- Fontana, L., M. Bermudez-Brito, J. Laza-Díaz, S. Murioz-Quezada and A. Gil. 2013. Sources, Isolation, Characterization and Evaluation of Probiotics. *British Journal of Nutrition.* 109: S35-S50.
- Fuller, R. 2002. Probiotic: What They are and What They Do. Situs FAO-WHO. 2002. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. Health and Nutritional Properties of Probiotic in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. www.fao.org/3/a-a0512e.pdf
- FAO/WHO (2006). Probiotics in Food : Health and Nutritional Properties and Guidelines for evaluation. FAO Food and Nutrition Paper 85.
- Gueimonde, M., B. Sanchez, C. G. delos Reyes-Gavilán and A. Margolles. 2013. Antibiotic Resistance in Probiotic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*. Volume 4: 1-6.
- Hawaz, Estifanos. Isolation and Identification of probiotic lactic acid bacteria from curd and in vitro evaluation of its growth inhibition activities against pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*. 2014. Vol. 8 (13): 1419-1425
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, and N., Fakiri, E.M., 2013. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr.* 2013.
- Kos, B., J. Suskovic, S. Vukovic, M. Simpraga, J. Frece & S. Matosic. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J. Appl. Microbiol.*, 94(6): 981-987.
- Lim, Sung-Meedan Dong-Soon Im. 2009. Screening Characterization of Probiotic Lactic acid Bacteria isolated from Korean Fermented Foods. *J. Microbiology and Technology*. 19 (2): 178-186

- Lopez, J. 2000. Probiotic in animal nutrition. *Recent Advances in Animal Nutrition Asian-Australian*. Journal of Animal Science, 55: 1238– 1246.
- Madhava Rao, T., Mallikarjuna Reddy, P.V., Kondal Reddy, K., others, 2013. Evaluation of different lactic acid bacterial strains for probiotic characteristics. *Vet. World* 6.
- Meira, S.M.M., Helfer, V.E., Velho, R.V., Lopes, F.C., Brandelli, A., 2012. Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese. *J. Dairy Res.* 79, 119–127.
- Mojgani, N., Hussaini, F., and Vaseji, N., 2015. Characterization of indigenous *Lactobacillus* strains for probiotic properties. *Jundishapur J. Microbiol.* 8.
- Nurnaafi, A. 2016. *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam sebagai Probiotik*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Otero, M.C., V.S.O caña & E.M. Nader-Macías. 2004. Bacterial surface characteristics applied to selection of probiotic microorganisms. *Method. Mol. Cell. Biol.*, 268: 435-440.
- Pelczar MC, ECS Chan dan Krieg NR. 1993. *Microbiology Concept and Application*. Mc Graw-Hill, Inc., New York
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., 2002. *Laboratory exercises in microbiology*. McGraw-Hill Companies.
- Rosenberg, M.D., D. Gutnick & E. Rosenberg. 1980. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.*, 9: 29-33
- Salminen, S, Atte, V.W and Arthur O, 2004. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel
- Surono, I.S. 2016. *Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional*, Yogyakarta : Deepublish.
- Susanti, I, Kusumaningtyas W.R, Illaningtyas F. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam laktat Sebagai Kandidat Bahan pangan Fungsional. *J. Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 18. No. 3.
- Syukur, S dan E. Purwati. 2013. *Bioteknologi Probiotik Untuk Kesehatan Masyarakat*. ANDI. Yogyakarta.
- Tadesse, G., Ephraim, E., Ashenafi, M., 2005. Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some foodborne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Int J Food Saf.* 5, 13–20.

- Tadesse, S., 2012. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics as Functional Food Ingredients: Production, Health Benefits and Safety. *J. Biol. Act. Prod. Nat.* 2, 124–134.
- Torshizi, M.K., Rahimi, S., Mojangi, N., Esmaeilkhanian, S., Grimes, J.L., 2008. Screening of indigenous strains of lactic acid bacteria for development of a probiotic for poultry. *Asian-Aust J Anim Sci* 21, 1495–1500.
- Upadhyay, N. And V. Moudgal. (2012). Probiotik : A review. *JCOM* vol. 19(2), 76-84
- Widodo AD. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Cetak ke-1. Yogyakarta: Lacticia Press.
- Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., 2012. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express* 2, 1.

sample andalas university press (percetakan unand)

BAB V

BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI BIOPRESERVATIF

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa mampu memahami persamaan dan perbedaan bakteriosin dengan antibiotika.
2. Mahasiswa mampu menggunakan strategi aplikasi bakteriosin untuk pengawetan pangan.
3. Mahasiswa mampu menjelaskan kelebihan bakteriosin sebagai biopreservatif.

5.1 Bakteriosin

Bakteriosin adalah peptida yang disintesis di dalam ribosom oleh bakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain. Bakteriosin memiliki sifat seperti antibiotik, tetapi ada beberapa sifatnya yang berbeda dengan antibiotik yaitu bakteriosin disintesa di ribosom, dan sel inang kebal terhadap bakteriosin. (Salminen, *et al.* 2004). Secara umum, penamaan bakteriosin mirip dengan penamaan enzim. Pada enzim, diberi akhiran *ase*, sedangkan pada bakteriosin diberi akhiran *cin*. Namun tidak semua bakteriosin berakhiran *cin*, seperti nisin yang dihasilkan dari *Lactococcus lactis* (Surono, 2004). Pada Tabel 12, dapat dilihat perbedaan antara bakteriosin dan antibiotik.

Tabel 12. Perbedaan antara Bakteriosin dan Antibiotik

Karakteristik	Bakteriosin	Antibiotik
Aplikasi	Pangan	Kesehatan
Sintesis	Ribosom	Metabolit Sekunder
Aktivitas	Spectrum sempit	Spektrum bervariasi
Toksitas	Tidak ada	Ada

Sumber: Cleveland, *et al.*, (2001)

Dalam menentukan jenis bakteriosin, maka dapat dilihat termasuk ke dalam kelas pengelompokannya. Bakteriosin dikelompokkan menjadi empat kelas yaitu: Kelas I, Lantibiotik, yang merupakan peptide rantai pendek, suatu asam amino yang sangat khusus (misal

nisin, suatu residu 24 peptida yang sangat aktif terhadap bakteri gram positif. Sebaliknya, kelas II, bakteriosin yang mengandung senyawa non lantionin, seperti lactococcins, pediocins, lactacins dan leucocin, merupakan peptide berberat ato rendah yang tahan panas, terdiri dari 36-44 asam amino. Kebanyakan bakteri kelas II, mempunyai daya antibakteri terhadap *Listeria monocytogenes* (Deagen *et al.*, 2006). Bakteriosin kelas III, protein, peptide dengan berat atom tinggi, yang tidak tahan panas, dan kelas IV merupakan kompleks bakteriosin yang tidak diketahui dengan baik identitasnya. Seperti yang dapat di lihat pada Tabel 12.

Tabel 13. Klasifikasi Bakteriosin yang dihasilkan Bakteri Asam Laktat

Kelas	Sub Kelas	Deskripsi
Kelas I		Lantibiotic
Kelas II		Berberat molekul kecil (<10kDa), tahan panas 100-120°C. Peptida yang aktif terhadap <i>Listeria</i>
	Iia	Bakteriosin dipeptida
	Iib	Peptida yang mengandung thiol aktif
	Iic	Berat Molekul besar (>30kDa)
Kelas III		Kompleks bakteriosin
Kelas IV		

Sumber: Cleveland *et al.*, (2001)

Uji aktivitas bakteriosin dapat diawali dengan skrining sederhana dengan mengamati daya hambat yaitu menggoreskan bakteri asam laktat probiotik yang diuji daya antibakterinya terhadap goresan bakteri pathogen yang akan diuji, sehingga dapat dilihat penghambatan pertumbuhan sepanjang bakteri probiotik. Selanjutnya diuji dengan *paper disc*. Setelah terdeteksi adanya aktivitas daya hambat terhadap bakteri pathogen, dapat di uji secara kompleks secara *in vitro*, *in vivo* dan klinis untuk membuktikan bahwa daya antibakteri itu merupakan aktivitas bakteriosin dan bukan senyawa penghambat lain. (Surono, 2004)

Bakteriosin bekerja dalam dua tahap yang melibatkan adsorpsi bakteriosin pada reseptor spesifik atau non spesifik pada permukaan sel yang menghasilkan kematian sel. Target utama bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat kemungkinan besar adalah membran sitoplasma, karena bakteriosin memulai reaksi-reaksi yang mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transport membran yang mengakibatkan terhambatnya produksi energi dan

biosintesis protein atau asam nukleat (Nissen-Meyer 1992 di dalam Kusumawati (2000).

Karthikeyan dan Santosh (2009), mengisolasi *Lactobacillus acidophilus* dari udang (*Penaeus monodon*) untuk menghasilkan bakteriosin. Bakteriosin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen, dengan produksi maksimum pada suhu 50 °C, pH 4 dan 0.9% NaCl. Bakteriosin yang telah dimurnikan dengan metode pengendapan sulfat dan pertukaran ion memiliki berat molekul 2.5 KDa.

5.2 Sintesis Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat

Bakteriosin diproduksi oleh bakteri asam laktat (BAL), didefinisikan sebagai protein yang aktif secara biologi atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein) yang disintesis secara ribosomal, dan menunjukkan aktivitas antibakteri. Bakteriosin disintesis selama fase eksponensial pertumbuhan sel mengikuti pola klasik sintesis protein. Sistem ini diatur oleh plasmid DNA ekstrakromosomal dan dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama pH. Umumnya bakteriosin disintesis melalui jalur ribosomal, sedangkan kelompok antibiotik disintesis secara ribosomal sebagai prepeptida kemudian mengalami modifikasi. Sekresi prepeptida dilakukan pada fase eksponensial dan diproduksi secara maksimal pada fase stasioner (Luc De Vuyst, 2007).

Prinsip regulasi sintesis bakteriosin diatur oleh adanya gen pengkode produksi dan pengkode immunitas. Umumnya BAL ditumbuhkan pada media seperti MRS (deMann Rogosa Sharpe) dapat menghasilkan populasi sel bakteri yang tinggi dan bakteriosin yang relatif banyak namun relatif mahal sehingga tidak efektif digunakan untuk memproduksi bakteriosin. Oleh karena itu diperlukan ada formula media alternatif untuk produksi bakteriosin yang lebih murah. Penggunaan beberapa limbah industri pangan sebagai media pertumbuhan kultur agar lebih ekonomis mulai digunakan, seperti whey dari limbah pembuatan keju, jus zaitun, jeroan ikan. Produksi bakteriosin umumnya dilakukan dalam kultur substrat cair. Beberapa faktor dapat mempengaruhi produksi bakteriosin diantaranya dipengaruhi oleh faktor pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan (Luc De Vuyst, 2007).

Sumber karbon maupun nitrogen yang digunakan dalam medium produksi mempengaruhi laju pertumbuhan BAL, dan juga berpengaruh terhadap metabolisme produksi bakteriosin. Selain itu

tingkat salinitas medium produksi seperti kandungan garam dari media turut mempengaruhi metabolisme produksi Bakteriosin. Kondisi optimum produksi bakteriosin dipengaruhi oleh fase pertumbuhan, pH media, suhu inkubasi, jenis sumber karbon dan sumber nitrogen serta konsentrasi NaCl.

Prosedur sintesis bakteriosin dari bakteri asam laktat terdiri atas 5 (lima) tahap, yaitu: a). Pembuatan kultur bakteri asam laktat, menggunakan media MRS broth, penyegaran isolat dilakukan menggunakan media MRS agar, media untuk produksi bakteriosin digunakan medium TGE (Tryptone-glukosa-yeast ekstrak); b). Isolasi bakteriosin; c). Uji aktivitas antimikroba dari larutan bakteriosin, dilakukan menggunakan metode difusi sumuran; d). Uji karakterisasi bakteriosin dilakukan dengan cara supernatant bakteriosin hasil isolasi dikarakterisasi yang meliputi uji kestabilan terhadap variasi pH, suhu, enzim, serta cairan surfaktan, dan beberapa parameter yang lain. e). Purifikasi bakteriosin, dilakukan dengan elektroforesis untuk mengetahui berat molekul protein dengan SDS-PAGE, dan dilanjutkan dengan identifikasi jenis asam aminonya (Luc De Vuyst, 2007).

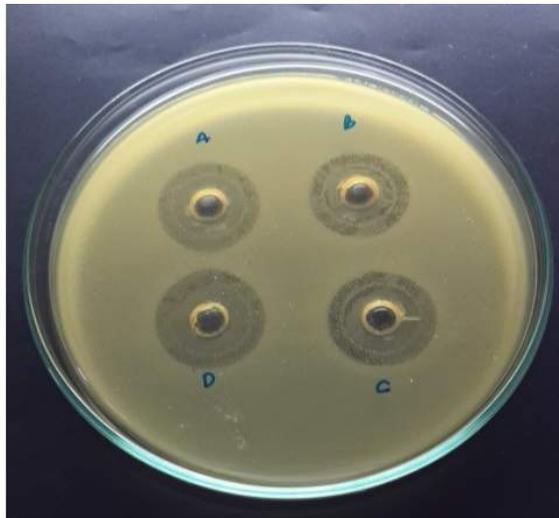
5.3 Mekanisme kerja bakteriosin

Sasaran bakteriosin dari BAL adalah membran sitoplasma sel bakteri yang disebabkan oleh reaksi awal bakteriosin dengan cara merusak permeabilitas membran dan menghilangkan *proton motive force* (PMF) sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat. Aktivitas penghambatan bakteriosin membutuhkan reseptor spesifik permukaan sel, misalnya pada pediocin AcH. Selain itu juga dapat mengakibatkan terjadinya lisis pada sel. Hal ini adalah pengaruh sekunder dari aktivitas pediocin AcH melalui depolimerisasi lapis peptidoglikan, sehingga secara tidak langsung dapat mengaktifkan sistem autolisis sel (Salvadore, 2006).

Adapun mekanisme kerja bakteriosin adalah sebagai berikut: (1) molekul bakteriosin mengalami kontak langsung dengan membran sel, (2) proses ini menimbulkan gangguan potensial membran yaitu destabilitas membran sitoplasma yang mengakibatkan sel menjadi rapuh, dan (3) ketidakstabilan membran menyebabkan timbulnya lubang atau pori pada membran sel melalui proses gangguan terhadap PMF (Proton Motive Force). Kebocoran pada membran sitoplasma ditunjukkan oleh adanya aktivitas keluar masuknya molekul seluler yang berdampak pada penurunan gradient pH seluler. Pengaruh pembentukan lubang sitoplasma menyebabkan

terjadinya perubahan gradient potensial membran dan pelepasan mekul intraseluler maupun masuknya substansi ekstraseluler (lingkungan). Hal ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan terjadi kematian pada sel yang sensitif terhadap bakteriosin (Luc De Vuyst, 2007).

Normalnya, strain bakteri Gram positif sensitif terhadap bakteriosin dengan spektrum yang sangat bervariasi, sedangkan strain bakteri Gram negatif resisten terhadap bakteriosin. Namun, bakteri Gram negatif tersebut dapat menjadi sensitif mengikuti kerusakan struktur lipopolisakarida pada permukaan sel secara fisik dan tekanan kimia. Bakteriosin asal bakteri asam laktat tidak efisien dalam menghambat bakteri Gram negatif karena membran terluarnya bersifat hidrofilik dan dapat menghalangi aksi bakteriosin. Bakteri Gram negatif memiliki sistem seleksi terhadap zat-zat asing yaitu pada lapisan lipopolisakarida (Luc De Vuyst, 2007).



Gambar 23. Aktivitas bakteriosin terhadap beberapa suhu (A. 40°C, B. 60°C, C. 80°C, D. 100°C) terhadap *Staphylococcus aureus*

5.4 Aplikasi Bakteriosin

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat sangat menguntungkan untuk diterapkan pada industri makanan dan terutama makanan-makanan hasil fermentasi. Hal ini disebabkan karena aktivitasnya yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri kontaminan penyebab pembusukan makanan dan penyakit

yang ditularkan melalui makanan (food borne illness) (Abdelbasset et al., 2008).

Beberapa strategi yang mungkin untuk dilakukan dalam aplikasi bakteriosin untuk pengawetan pangan: 1) Inokulasi bakteri asam laktat dalam makanan yang memproduksi bakteriosin pada makanan (produksi in situ) Contohnya pada proses fermentasi makanan; 2) Penambahan bakteriosin sebagai pengawet makanan biasanya digunakan dalam pengawetan bahan makanan segar, seperti daging, ikan, dan buah segar; dan 3) Menggunakan produk hasil fermentasi dengan bakteriosin yang menghasilkan strain sebagai bahan formulasi makanan. Contohnya pada pembuatan keju (Adetunji et al., 2007).

Bakteriosin dari BAL yang digunakan sebagai biopreservatif mempunyai beberapa keuntungan, antara lain: tidak bersifat toksik serta tidak merubah rasa dan tekstur bahan pangan, mudah mengalami biodegradasi karena merupakan senyawa protein, tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan, serta telah terseleksi dan mampu mampu menghambat dalam kadar yang rendah sebagai bahan pengawet pada makanan atau sebagai bahan aditif (Abdelbasset *et al.*, 2008).

Pemakaian bakteriosin secara komersial sebagai pengawet alami sudah mulai diaplikasikan pada beberapa jenis makanan di beberapa negara. Bakteriosin dapat diproduksi oleh *Lactococcus*, *Lactobacillus* dan *Pediococcus* yang berasal dari berbagai bahan makanan, misalnya nisin diproduksi oleh *Lactococcus lactis*, pediosin AcH dihasilkan *Pediococcus acidilactic*. Ada beberapa keuntungan pemanfaatan bakteriosin sebagai biopreservatif yaitu: (i) tidak bersifat racun dan dapat didegradasi oleh enzim proteolitik karena bakteriosin adalah senyawa protein; (ii) tidak merugikan atau menghambat pertumbuhan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim saluran pencernaan; (iii) sebagai alternatif lain untuk menghindari penggunaan bahan kimia sebagai pengawet pangan; (iv) penggunaannya fleksibel; dan (v) stabil terhadap pH dan suhu yang cukup luas sehingga tahan terhadap proses pengolahan yang melibatkan asam dan basa, serta kondisi panas dan dingin (Cleveland et al., 2001 dalam Usmiati dan Marwati, 2007).

Bakteriosin sebagai biopreservatif sangat potensial digunakan untuk mencegah pertumbuhan bakteri kontaminan, tetapi secara komersial ketersediaannya masih sedikit dan harganya sangat mahal. Di lain pihak, koleksi BAL di Indonesia dapat dimanfaatkan untuk

produksi bakteriosin karena ketersediaannya yang cukup banyak. (Kim dan Ahn, 2000 dalam Usmiati dan Marwati, 2007).

Molekul bakteriosin bermuatan positif dan cenderung membentuk agregat, adsorb pada permukaan bakteri gram positif. Aktivitas bakterisidal oleh bakteriosin dimulai dengan destabilitas fungsi permeabilitas membran sel dan pembentuk energi. Bakteriosin umumnya efektif terhadap sel dari bakteri gram positif. Aplikasi bakteriosin pada makanan lebih tepat digunakan pada makanan yang dikemas vakum dan disimpan pada suhu dingin (Surono, 2016).

Diantara senyawa-senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, bakteriosin paling banyak diterapkan sebagai antimikroba pada bahan pangan. Hal ini disebabkan sifatnya yang cukup efektif dalam menghambat dan mematikan sejumlah bakteri patogen yang sering mencemari bahan pangan. Selain itu bakteriosin juga mampu diproduksi dan mempunyai aktivitas yang cukup tinggi pada suhu rendah sehingga bisa bekerja sinergis dengan perlakuan penyimpanan suhu rendah untuk meningkatkan keamanan pangan terhadap bakteri patogen terutama yang tahan pada suhu rendah seperti *L. monocytogenes*. Kelebihan bakteriosin adalah memberikan efek antimikroba tanpa menimbulkan perubahan citarasa dan kenampakan yang nyata pada produk yang dihasilkan. Bakteriosin yang dihasilkan asam laktat semakin mendapat perhatian sebagai bahan tambahan makanan (*food additives*) potensial terhadap bakteri patogen pengkontaminasi makanan. (Kusumawati, 2000). Pada Tabel 14 dan 15 dapat dilihat beberapa jenis bakteriosin yang diisolasi dari bakteri asam laktat dan aplikasinya yang sudah dipatenkan.

Tabel 14. Contoh Bakteriosin Yang Diisolasi Dari Pangan

Sumber	Strain
Produk probiotik	<i>Streptococcus sp CNCM I-841</i>
Bulgarian Yellow Cheese	<i>L. delbrueckii sp</i>
Meat	<i>Leuconostoc carnosum Ta1 La</i>
Whey	<i>Ent. Faecalis 226</i>
Susu Kambing	<i>Leu. Mesenteroides Y 105</i>

(Cleveland *et al.*, 2001)

Tabel 15. Contoh Patent Aplikasi Bakteriosin Pada Makanan

Penulis	US Paten	Judul Paten	Aplikasi
Vandenberg <i>et al.</i> (1993)	5,817,362 (10.06.98)	Method for inhibiting bacteria using a novel lactococcal bacteriocin	Menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif dengan bakteriosin dari <i>L.lactis</i> NRRL-B-18535
Vedhamutu <i>et al.</i> (1995)	5.445,835 (08.29.95)	Method of producing a yogurt product containing bacteriocin PA-1	Yogurt yang mengandung bakteriosin mampu memperpanjang masa simpan
Broudreux <i>et al.</i> (1993)	5.219.603 06.15.93)	Competition for extending the shelf life of processed meat	Menggunakan bakteriosin dari <i>P.acidilactici</i> untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan memperpanjang masa simpan produk olahan daging

(Cleveland *et al.*, 2001)

Bakteriosin dari bakteri asam laktat mempunyai keunggulan karena masuk dalam status GRAS. Berbagai aplikasi penggunaan nisin sudah banyak diteliti, misalnya pada pengawetan buah dan sayuran dalam kaleng, susu non fermentasi, produk olahan susu, daging, ikan. Penghambatan pertumbuhan spora bakteri merupakan aplikasi biopreservatif nisin yang paling potensial. Aspek regulasi pemanfaatan bakteriosin sebagai bipreservasi dibahas pada simposium yang disponsori oleh *International Life Science Institute (ILSI)* dan bakteri yang termasuk dalam GRAS, diziinkan untuk digunakan (Surono, 2016).

Nisin dapat mengontrol pertumbuhan *L.monocytogenes* dalam keju *ricotta*. Penambahan nisin pada konsentrasi 100 ppm dapat menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* lebih dari 8 minggu, sedangkan keju tanpa penambahan nisin, menyebabkan pertumbuhan *Listeria* yang tidak terkontrol setelah penyimpanan 2 minggu (Davies *et al.*, 1997).

sample andalas university press (percetakan unand)

PERTANYAAN

1. Jelaskan persamaan dan perbedaan bakteriosin dengan antibiotika
2. Bagaimana strategi aplikasi bakteriosin untuk pengawetan pangan.
3. Jelaskan kelebihan bakteriosin sebagai biopreservatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelbasset M dan Kirane Djamila., 2008. Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk "Raïb" African Journal of Biotechnology Vol. 7 (16), pp. 2908-2914,
- Adetunji, 2007. Bakteriosin and Cellulose production by Lactic Acid Bacteria Isolated, African Journal of Biotechnology, Vol. 6 (22), pp. 2616-2619
- Arthur C.O dan Satu V, 2004. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In Lactic Acid Bacteria : Microbiological and Functional Aspect. Salminen, S., AV Wright and A. Ouwehand. (Eds). Marcel Dekker, New York. pp. 375-395
- Cleveland, J., T.J. Montville, I.F. Nes, and M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocins : Safe, Natural, Antimicrobials for Food Preservation. International Journal Food Microbiology 71, pp. 1-20
- Cleveland, J., T.J. Montville, I.F. Nes, and M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocins : safe, natural, antimicrobials for food preservation. International Journal Food Microbiology 71, pp. 1-20
- Davies, E.A., H.E., Bevis and J. Delves-Broughton, 1997. The use of bacteriocin, nisin, as preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 24, 343-346.
- Karthikeyan, V. and S.W., Shantosh. 2009. Study of Bacteriocin as Food Preservative and The *L. acidophilus* Strain as Probiotic. Pakistan Journal Nutrition 8(4) : 335-340
- Kusumawati, N., 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Listeria monocytogenes* Pada Bahan Pangan. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi Vol 1(1).Hal. 14-28.
- Luc De Vuyst. 2007. Bakteriosins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Application, Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 13, 194-199).

- Salminen, S, Atte, V.W and Arthur O, 2004. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel
- Salvado, A. 2006. Bacteriocins and Lactic Acid Bacteria-a miniriview. African Journal of Biotechnology 5(9):678-683.
- Surono, I.S. 2016. Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional, Yogyakarta : Deepublish
- Surono., I.S. 2004. Probiotik ; Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Mandiri, Jakarta
- Usmiati S., Marwati T. 2007. Seleksi dan Optimasi Proses Produksi Bkateriosin dari *Lactobacillus sp.* J. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. 4 (1) : 27-37.

sample andalas university press (percetakan unand)

BAB VI

PRODUK OLAHAN SUSU FERMENTASI

Tujuan Instruksional Khusus:

1. Mahasiswa mampu menjelaskan perbedaan berbagai jenis produk olahan susu berdasarkan BAL yang berperan di dalamnya.
2. Mahasiswa mampu mengetahui peranan susu dan potensinya sebagai pangan probiotik bagi kesehatan.
3. Mahasiswa mampu menjelaskan perbedaan kualitas dadiah dari berbagai daerah di Sumatera Barat.

Pengolahan susu bertujuan untuk meningkatkan keragaman produk susu, memperpanjang penyimpanan susu, mempertahankan kandungan gizi susu, meningkatkan pendapatan peternak dengan daya jual produk olahan susu yang lebih tinggi. Seiring perkembangan teknologi telah banyak produk olahan susu yang berkembang di Indonesia. Menurut Shearer *et al.*, (1992) tujuan pengolahan susu adalah : membunuh bakteri kontaminan dengan cara pasteurisasi; mempertahankan mutu produk susu tanpa mengalami penurunan mutu aroma, bentuk, sifat fisik dan gizi; dan mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme yang menghasilkan produk yang tidak dikehendaki. Sehingga industri pengolahan susu dapat menerapkan prosedur pengolahan secara benar dan untuk mencegah pencemaran yang disebabkan oleh bakteri pada susu; menurunkan jumlah mikroba di dalam susu; dan melindungi produk akhir dari potensi rekontaminasi dengan cara penanganan yang baik, cara pengemasan dan penyimpanan yang tepat. Berikut ini terdapat beberapa produk olahan hasil ternak:

6.1 KEJU

Keju adalah salah satu produk olahan susu yang diperoleh melalui proses penggumpalan susu (*whole milk*), susu skim atau campurannya menggunakan *rennet* yaitu enzim yang terdapat dalam lambung hewan ruminansia muda (Usmiati dan Abubakar, 2009). Pembuatan keju pada awalnya dilakukan dengan tujuan mengawetkan kandungan protein bernilai tinggi yang terdapat pada susu. Di Indonesia keju merupakan

bahan pangan yang belum memasyarakat karena harganya relatif mahal dan produksi keju di Indonesia belum begitu berkembang, hal ini terlihat dari sebagian besar keju di Indonesia yang ternyata merupakan produk impor. Menurut Razharni, (2003) Berdasarkan teksturnya keju dapat dibagi menjadi beberapa kelompok diantaranya:

A. KEJU LUNAK (*SOFT CHEESE*).

Ciri-ciri keju lunak (*soft Cheese*) adalah kadar air tinggi, di atas 50c%. Contoh : keju cottage cheese, quark, cream cheese, camembert, feta, neufchatel, mozzarella. Keju mozzarella adalah keju lunak yang proses pembuatannya tidak dimatangkan atau disebut dengan keju segar (*fresh cheese*).



Gambar 24. a) Keju cottage

b) Keju mozzarella

Sumber : a. <https://womantalk.com/food/articles/cottage-cheese>

b. <http://zumrotulmufidah48.blogspot.co.id/2017/11/keju-mozarella.html>

Keju mozzarella adalah keju lunak yang proses pembuatannya tidak dimatangkan atau disebut dengan keju segar (*fresh cheese*) (Komar *et al.*, 2009). Keju Mozzarella termasuk kelompok keju "*pasca filata*", yaitu keju yang dipanaskan dan dilelehkan yang dilakukan pada suhu 70- 85°C. Ciri-ciri keju Mozzarella adalah elastis, berserabut, dan lunak. Hal ini disebabkan adanya proses pembenaman di dalam bak air panas dan adanya penekanan hingga lunak. Pembuatan keju mozzarella selama ini dilakukan dengan menggunakan kultur starter untuk mengasamkan susu disertai penambahan renet untuk membentuk curd.

Fox *et al.*, (2000) menyatakan bahwa keju Mozzarella dapat dibuat tanpa menggunakan kultur starter, tetapi dibuat dengan menggunakan pengasaman langsung pada susu. Pengasaman langsung dengan asam yang memenuhi syarat penambahan zat aditif yang aman (biasanya asam laktat, asam asetat atau asam sitrat) atau zat pengasam sering digunakan sebagai alternatif pengganti pengasaman secara biologis. Pengasaman langsung ini lebih terkontrol daripada pengasaman secara

biologi. Oleh sebab itu, pengasaman secara kimia ini sering digunakan untuk jenis-jenis keju yang mementingkan tekstur daripada flavor.

B. KEJU SEMI KERAS (SEMI-HARD CHEESE)

Ciri-cirinya adalah kadar air antara 40 sampai 45%. contohnya antara lain: Roquefort, Limberger, Munster. Limburger adalah keju bertekstur lembut yang menggunakan susu sapi yang dipasteurisasi dalam proses pembuatannya. Ciri yang paling menonjol dari keju Limburger adalah baunya yang sangat menonjol dan kuat. Sedangkan rasa dari keju ini pedas dan memiliki aroma yang seperti aroma daging. Warna dari bagian dalam keju ini adalah kuning. Walaupun teksturnya cukup kuat dan padat tetapi keju ini dapat menjadi basah dan berlendir.



Gambar 25. a) Keju limburger

b) Keju Roquefort

Sumber: <http://tokokuesarah.blogspot.co.id/2016/11/macam-macam-jenis-keju.html>

Roquefort merupakan keju biru yang berasal dari Perancis yang diolah dari susu domba mentah. Keju Roquefort berbentuk silinder dengan diameter 19 sampai 20 sentimeter dan tinggi 10 hingga 99 sentimeter. Keju ini memiliki ciri-ciri yaitu kulit dan bercorak abu-abu kehijauan akibat jamur yang ditambahkan pada proses pengolahannya.

C. KEJU KERAS (HARD CHEESE).

Keju keras (*Hard cheese*) memiliki kadar air 35-40%. Contoh : Cheddar, Edam, Gouda, Emmental, Gruyere. Cheddar adalah Keju yang relatif keras berwarna kuning pucat hingga putih gading, dan kadang-kadang memiliki rasa yang kuat. Keju ini berasal dari desa Cheddar di Somerset, Inggris. Keju Cheddar telah dibuat tiruannya secara luas,

baik di Inggris, maupun di negara-negara lain seperti Amerika Serikat, Australia, Selandia Baru, Afrika Selatan, Kanada, dan Islandia.



Gambar 26. a) Keju Edam

b) Keju Cheddar

Sumber: a. <https://lifestyle.okezone.com/read/2015/04/23/298/1138906>
b. <https://kumparan.com/@kumparanfood/edam>

Edam adalah salah satu jenis keju yang berasal dari Belanda yang memiliki ciri-ciri, berbentuk bulat dan berwarna kuning terang dan dikemas menggunakan parafin dan malam berwarna merah. Keju ini diberi nama demikian karena pertama kali dibuat di Edam, Holland Utara. Keju Edam memiliki rasa yang sangat lembut, sedikit asin atau terasa seperti kacang, keju ini juga tidak berbau bila dibandingkan keju lainnya. Keju ini juga memiliki kandungan lemak jauh lebih rendah dibandingkan keju tradisional lainnya sebanyak 28 persen dengan kandungan protein sebanyak 25%. Keju Edam yang modern jauh lebih lembut dibandingkan keju yang lain, seperti Keju Cheddar, karena kandungan lemaknya yang lebih rendah.

D. KEJU SANGAT KERAS (VERY HARD CHEESE).

Keju ini, memiliki kadar air maksimum 35%. Jenis keju ini adalah: Parmesan, Romano, Grana, Asiago. Keju Parmesan berasal dari Itali dan digunakan di serata dunia. Di Eropah, hanya keju yang diperbuat secara khas dari kawasan Itali terpilih yang boleh dilabel sebagai Keju Parmesan. Keju Parmesan sedikit masin dan bertekstur sedikit menggerutu. Ia digunakan sebagai penambah rasa pada pasta, pizza, atau sebagai bahan untuk berbagai jenis sos.



Gambar 27. Keju Parmesan

Sumber:<http://tokokuesarah.blogspot.co.id/2016/11/macam-macam-jenis-keju.html>

Keju ini diperbuat secara tradisional dengan mencampurkan susu penuh krim dengan susu skim hari sebelumnya. Susu tersebut dipanaskan dan dicampurkan dengan rennet untuk menjadi adonan keju. Keju tersebut direndam dalam air garam dan dibiarkan selama sekurang-kurangnya dua tahun sebelum dijual.

Berdasarkan metode pengumpulan maka keju dapat dibedakan menjadi beberapa jenis yaitu :

1. Pembuatan keju dengan menggunakan enzim rennet

Rennet merupakan enzim yang dapat mengkoagulasikan protein. Ada dua sumber. *Animal Rennet* adalah enzim yang berasal dari ekstrak lambung dari anak sapi atau dapat diganti campuran antara Rennin dan pepsin atau protease mikroba yang kedua adalah *vegetable Rennet*, misalnya enzim papain dalam getah pepaya mempunyai daya tahan panas yang lebih tinggi daripada enzim lain tetapi keefektifannya akan turun apabila terus menerus dipanaskan. Enzim ini memerlukan substrat protein (polipeptida) dengan aktivitas optimum pada suhu 50-65°C.

Menurut Mustakim *et al.*, (2006) Alginat dapat digunakan untuk amobilisasi enzim rennin yang diproduksi dari *Mucor pusillus*. Suhu 37°C dan pH 6,0 dalam pembuatan keju segar menggunakan enzim rennin *Mucor pusillus* amobil dapat menghasilkan keju segar berkualitas baik dengan memiliki tekstur 1,1866 N, pH 4,94 - 5,21 dan keasaman 1,409%.

2. Pembuatan keju dengan menggunakan bakteri

Keju dibuat dari aktivitas bakteri *Lactobacillusbulgaricus*. Bakteri ini memulai fermentasi laktosa menjadi asam laktat dan menghilangkan oksigen. Protein susu akan terurai oleh aktivitas enzim proteolitik, pH akan turun menjadi 4.5. Keasaman yang dihasilkan saat fermentasi laktosa menjadi asam laktat dapat mempercepat penggumpalan casein, mencegah timbulnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Masih banyak bakteri lain yang dapat digunakan dalam pembuatan keju. Salah satunya bakteri yang juga dapat digunakan adalah *Streptococcus lactis*.

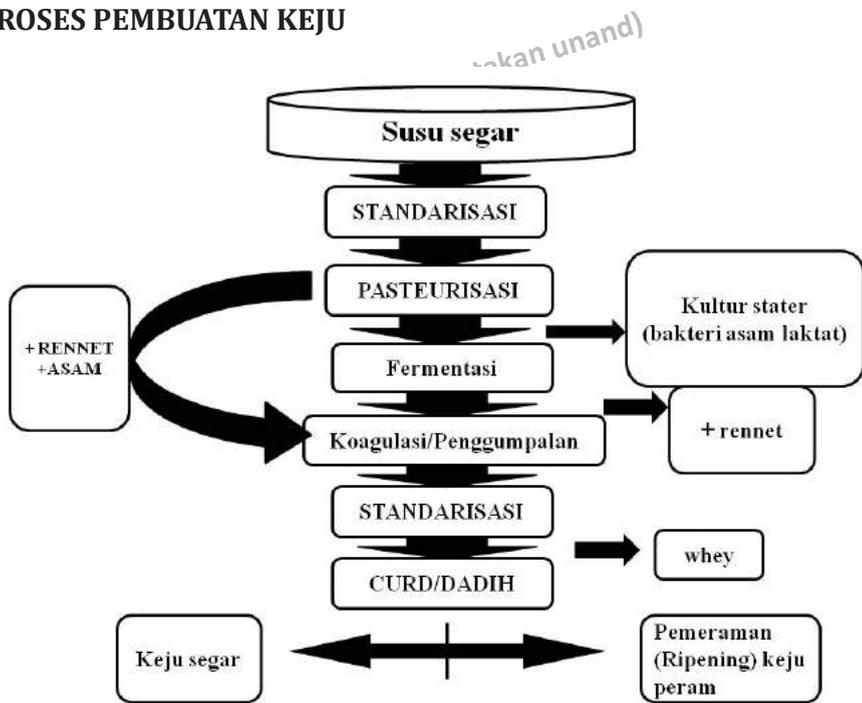
3. Penggumpalan keju menggunakan jamur

Penggunaan *M. miehei* dalam pembuatan keju dimaksudkan sebagai pengganti *rennet* yang berasal dari abomasum ruminansia yang digunakan sebagai penggumpal dalam pembuatan keju. Hal ini mengingat *rennet* yang berasal dari abomasum ruminansia yang digunakan dalam pembuatan keju harganya mahal dan tersedia dalam jumlah terbatas. *M. miehei* mampu menghasilkan enzim protease dan enzim lipase dengan aktifitas yang rendah sehingga dapat digunakan sebagai pengganti chymosin pada pembuatan keju. Enzim protease *M.miehei* bekerja dengan memutuskan ikatan peptida dari asam amino aromatik yaitu fenilalanin/valin, leusin/ tirosin, fenilalanin/fenalalanin atau pada ikatan fenilalanin/ tirosin.

Menurut Mulyani *et al.*, (2009) Kadar kolesterol keju cenderung mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi *Mucor miehei* Kadar protein keju meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi *M. Miehe*.

sample andalas university press (percetakan unand)

PROSES PEMBUATAN KEJU



Gambar 28. Diagram Alir proses Pembuatan Keju
(Modifikasi Mustakimet al., 2006)

6.2 KEFIR

PENGETERIAN KEFIR

Kefir merupakan minuman tradisional yang terkenal di Timur Tengah. Dunia mengatakan bahwa kalimat kefir berasal dari bahasa Turki yaitu “Keyif” yang artinya “perasaan menyenangkan”. Pernyataan tersebut secara keseluruhan benar artinya bagi kesehatan dan perasaan yang baik ketika mengkonsumsinya. Kefir berasal dari daerah pegunungan Kaukasus yaitu berada diantara Laut Hitam dan Laut Kaspia, Rusia Barat Daya. Nama kefirpun berbeda-beda pada setiap daerah, seperti, *kippe, kepi, khapov, khephir* dan *kiaphir*.

Kefir adalah susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yogurt dan memiliki aroma khas *yeasty* seperti tape (Saleh, 2004). Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupabutir atau biji kefir (*kefir grain/kefir granule*), yaitu butiran-butiran putih atau

krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus* sp., *Lactobacilli* dan beberapa jenis ragi/khamir nonpatogen Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian (2007). Biji kefir terlihat seperti batu karang atau gumpalan kecil bunga kol, yang mengandung campuran bakteri yang dan khamir, keduanya memfermentasikan laktosa dan non laktosa. Seperti halnya khamir, bakteri probiotik juga ditemukan dalam kefir.

Biji kefir atau *granula kefir* dapat digunakan berulang kali dengan perawatan tertentu. Adapun untuk perawatan biji kefir yaitu melakukan fermentasi secara terus menerus. Namun demikian jika sedang tidak ingin membuat kefir biji kefir dapat disimpan dengan cara direndam dalam susu segar dan simpan pada suhu 5°C dengan susu diganti setiap seminggu sekali. Penyimpanan dengan cara ini dilakukan untuk jangka pendek. Namun jika menginginkan penyimpanan lebih lama biji kefir dibungkus dengan susu skim dan di simpan pada suhu refrigerator.

MANFAAT KEFIR

Sebagai minuman yang bergizi tinggi dengan kandungan gula susu (laktosa) yang relatif rendah dibandingkan susu murni, kefir sangat bermanfaat bagi penderita *lactose intolerant* atau tidak tahan terhadap laktosa, karena laktosanya telah dicerna menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase dari mikrobial dalam biji kefir. Di samping itu, kefir juga dipercaya oleh sebagian masyarakat dapat menyembuhkan beberapa penyakit metabolisme seperti diabetes, asma, dan jenis tumor tertentu, walaupun penelitian secara ilmiah tentang hal itu belum dilakukan.

Di Rusia konsumsi kefir dianggap penting karena kemampuan probiotik dan peranan sebagai penunjang kesehatan. Di negara tersebut kefir digunakan secara luas di rumah sakit dan sanatorium sebagai makanan bagi pasien yang mengalami gangguan pencernaan, arteriosklerosis, kelainan metabolisme seperti tekanan darah tinggi, dan makanan bagi anak-anak.

KOMPOSISI KIMIA KEFIR

Kadar asam laktat *kefir* berkisar antara 0,8-1,1%, alkohol 0,5-2,5%, sedikit CO₂, kelompok vitamin B serta diasetil dan asetaldehid. Komponen dan komposisi *kefir* bervariasi tergantung *starter* yang digunakan, temperatur, waktu fermentasi serta bahan baku. *Kefir* dengan kadar lemak tinggi dapat dihasilkan dengan menggunakan

susu berkadar lemak tinggi sedangkan penggunaan susu skim akan menghasilkan *kefir* berkadar lemak rendah. Kadar laktosa bahan baku, jenis mikroba *starter* dan lama waktu fermentasi mempengaruhi jumlah asam laktat dan alkohol *kefir*. (Usmiati dan Abubakar, 2009).

Tabel 16. Komposisi Kimia Kefir

Komponen	100g	Komponen	100 g
Energy	65 kcal	Mineral content (g)	
Fat (%)	3,5	Calcium	0,12
Protein (%)	3,3	Phosphor	0,10
Laktose (%)	4,0	Magnesium	12
Water (%)	87,5	Potassium	0,15
Milk acid(g)	0,8	Sodium	0,05
Ethyl alcohol(g)	0,9	Chloride	0,10
Lactic acid (g)	1	Trace Elements	
Cholesterol (mg)	13	Iron (mg)	0,05
Phosphatateds (mg)	40	Copper (µg)	12
Essential amino acids (g)		Molybdenum (µg)	5,5
Tryptophan	0,05	Manganese (µg)	5
Phenylalanin + tyrosin	0,35	Zinc (mg)	0,36
Leucine	0,34	Aromatic compounds	
Isoleucine	0,21	Acetaldehyde	
Threonine	0,17	Diacetyl	
Methionine + cystine	0,12	Acetoin	
Lysine	0,27		
Valine	0,22	B ₁₂	0,5
Vitamins (mg)		Niacin	0,09
A	0,06	C	1
Carotene	0,02	D	0,08
B ₁	0,04	E	0,11
B ₂	0,17		
B ₆	0,050.		

Sumber: Otles and Cagindi (2003)

JENIS – JENIS KEFIR (Komunitas Kefir Indonesia, 2017)

1. Kefir Optima

Kefir ini merupakan hasil proses fermentasi normal, dimana curd dan whey nya tidak dipisahkan. Kefir ini yang umum digunakan dan dibuat di rumah-rumah sebagai konsumsi Kefir sehari-hari. Kefir Optima

bisa menggunakan Kefir Prima ataupun Kefir Optima lagi sebagai starter (bibit praktis). Namun penggunaan bibit praktis ini tidak dianjurkan untuk lebih dari 3 kali pengulangan (sampai dengan bibit F3), karena kualitasnya mengalami penurunan. Apabila kualitasnya ingin stabil, gunakan Kefir Prima yang pembuatannya menggunakan Kefir Grains. Jadi berupa Mother Culture (Biakan induk yaitu turunan pertama pembuatan dengan Kefir Grains atau juga disebut dengan F1). Volume Kefir Grains yang diperlukan berkisar antara 3% - 5% dari volume susu. Sedangkan waktu fermentasinya berkisar antara 30 jam sampai 48 jam. Bila menggunakan bibit praktis (Kefir Prima F1), dibuat dengan perbandingan 1 : 7, yaitu satu bagian bibit praktis dengan 7 bagian susu murni. Penyaringan untuk memisahkan Kefir dengan Kefir Grains dapat dilakukan dengan dua tahap.

Tahap pertama gunakan saringan kasar dengan lubang berdiameter sekitar 2 mm agar mudah untuk memisahkan *Kefir Grain* dari cairannya. Selanjutnya pada penyaringan tahap kedua digunakan saringan halus agar tekstur kefir yang dihasilkan cukup halus dan enak untuk dikonsumsi. Bila menggunakan bibit praktis, tidak diperlukan penyaringan, kecuali diinginkan tekstur Kefir yang lebih lembut.

2. Kefir Prima

Kefir ini mengandung probiotik yang maksimal, curd dari susu semuanya ada disini. Cocok disajikan sebagai minuman segar dengan gizi paling lengkap. Untuk susu sapi kualitas standard (BJ 27), volume kefir primanya yang bisa diperoleh adalah sekitar 60%. Sisanya berupa *Kefir Whey* (Kefir Bening) dipisahkan untuk dikonsumsi sebagai *Kefir Whey*, dengan volume sekitar 40%. Sedangkan untuk susu kambing (standar BJ=32), bisa diperoleh sampai 80%.

Untuk susu kambing, perbedaan antara *Kefir Optima* kambing dengan *Kefir Prima* kambing tidak terlalu menyolok, sehingga cenderung untuk tidak dipisahkan saja, dan seluruhnya menjadi kefir susu kambing (tanpa menyebut optima atau prima). Kebutuhan kefir grainsnya sama dengan pada pembuatan kefir optima. Kefir prima juga dapat dibuat dengan menggunakan bibit praktis (Kefir Prima itu sendiri).

3. Kefir Bening/Whey

Kefir Bening merupakan cairan isotonik terbaik, paling sesuai dengan cairan tubuh. Whey Protein yang terkandung di dalamnya digunakan oleh olahragawan untuk pembentukan otot. Kefir ini merupakan hasil

pemisahan pada proses fermentasi. Volume yang bisa diperoleh sekitar 40% sampai 70% dari bahan baku (susu sapi) kualitas standar. Kefir Bening yang bagus untuk dikonsumsi adalah yang tidak terlalu asam, yaitu dengan proses fermentasi antara 24 – 30 jam. Sementara yang sudah sangat asam, bagus untuk kebutuhan obat luar (antiseptik/ douche) atau kosmetika (toner/face tonic).

4. Kefir Kolostrum

Kefir ini dibuat dari Kolostrum perahan 16 jam dari saat Sapi atau kambing melahirkan perahan pertama dan kedua). Kefir Kolostrum memiliki daya pengobatan paling tinggi. Kefir Kolostrum memerlukan Kefir Grains yang 3 – 5 kali lebih banyak. Jadi untuk 1 liter Kolostrum diperlukan sekitar 200 gram Kefir Grains. Pembuatan Kefir Kolostrum memerlukan dua tahapan proses, yaitu tahap pertama dengan fermentasi pada suhu ruang selama 2x 24 jam. Pengadukan dilakukan setiap 12 jam. Setelah 48 jam, dilakukan penyaringan. Tahap kedua adalah proses pematangan (*ripening*). Kefir Kolostrum hasil tahap pertama disimpan di lemari pendingin (8 - 12°C) selama 3 x 24 jam, dengan pengadukan setiap 24 jam.

5. Kefir Prima Super

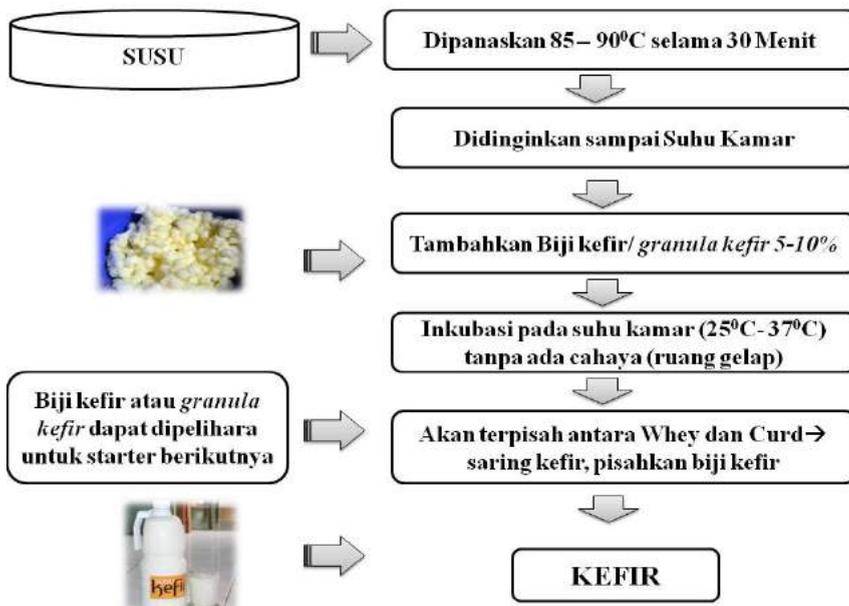
Kefir Prima Super adalah Kefir Prima dengan tambahan 15% Kefir Kolostrum. Lebih praktis, lebih hemat dengan khasiat yang paling optimal untuk segala macam gangguan penyakit dalam maupun untuk kebugaran. Kefir Prima Super dapat dibuat sejak awal, yaitu dengan mencampurkan 1 liter susu murni ditambah 150 cc Kolostrum, kemudian difermentasi. Bisa juga dengan mencampurkan Kefir Prima yang sudah jadi dengan 15% Kefir Kolostrum. Bila pencampuran susu dan Kolostrum dilakukan sejak awal proses fermentasi, diperlukan Kefir Grains antara 7 – 10%. Volume Kefir Prima Super yang bisa dihasilkan sekitar 70% dari bahan. Sebagai tambahan, disini juga dihasilkan Whey yang juga bisa disebut dengan Whey Super, yang secara signifikan memiliki kandungan nutrisi lebih tinggi dari whey susu, khususnya Whey Proteinnya.

6. Kefir Cream

Merupakan curd kefir yaitu bagian yang sangat kental. Kefir cream merupakan makanan dengan gizi yang sangat tinggi. Juga digunakan sebagai bahan kosmetik atau salep setelah ditambah dengan bahan-

bahanlain, seperti minyak zaitun, madu, ekstrak lidah buaya dan sebagainya. Volume kefir cream yang bisa diperoleh adalah sekitar 28% - 35% dari volume susu. Nilai gizinya juga sangat tinggi, sekitar 3 kalilipat dari Kefir Optima, atau sekitar 1500 kalori per liter. Untuk membuat Kefir Cream, diperlukan Kefir Grains 50 gram dan 100 cc Kefir Prima untuk setiap 1 liter susu. Setelah 24 jam, lakukan penyaringan, dan hasil saringan dibiarkan di suhu ruang lagi 36 - 48 jam. Kefir Cream untuk konsumsi ini diperoleh sekitar 40% dari volume susu. Untuk kebutuhan Kefir Kosmetik, fermentasi tahap kedua bisa berlangsung 2 x 24 jam lagi. Tidak boleh dilakukan pengadukan agar whey bisa lebih terkumpul di bagian bawah. Setelah total 4 x 24 jam, curd yang dihasilkan simpan di saringan atau di kain linen, selama 24 jam lagi di suhu ruangan agar diperoleh Kefir Cream yang sangat kental. Kefir Cream yang sangat kental ini volumenya sekitar 30% dari bahan.

PROSES PEMBUATAN KEFIR



Gambar 29. Diagram Alir Proses Pembuatan Kefir
(Modifikasi Usmiati dan Abubakar, 2009)

1. Dilakukan pasteurisasi pada susu segar dengan total padatan 11-12% (pemanasan pada suhu 85-90°C selama 30 menit), kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar (28°C)

2. Biji kefir atau *granula kefir* dimasukkan sebanyak 5 - 10% ke dalam susu pasteurisasi dan dilakukan homogenisasi.
3. Kemudian susu tersebut diinkubasi selama 24, 48 atau 72 jam (Tergantung jenis kefir yang diinginkan dan rasa asam yang disukai) pada suhu 25-37°C (suhu ruang), inkubasi tanpa cahaya.
4. Apabila telah terjadi penggumpalan maka dilakukan penyaringan untuk mendapatkan kembali biji kefir/*granula kefir*.
5. Kefir yang telah disaring siap untuk diminum dengan atau tanpa tambahan bahan lain.
6. Selanjutnya granula kefir dicuci dengan air yang matang atau susu segar dan bisa juga menggunakan whey kefir untuk digunakan kembali sebagai starter, demikian seterusnya.

MIKROBIOLOGI KEFIR

Mikroorganisme yang berperan di dalam fermentasi susu menjadi kefir adalah jenis bakteri asam laktat dan jamur yang tergabung di dalam bibit kefir atau kefir grains. Terdapat 55 spesies jamur dan bakteri yang terdapat pada kefir grains (Tabel 9).



Gambar 30. Kefir grain atau bibit kefir (Ferawati *et al.*, 2017)

Tabel 17. Mikroba yang terdapat pada biji kefir/ *kefir grain*

<i>Acetobacter fabarum</i>	<i>Kazachstania unispora</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
<i>Acetobacter syzygii</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>Kefiranofaciens</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>Lactis</i>	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>Kefirgranum</i>
<i>Bifidobacterium spp</i>	<i>Lachancea meyersii</i>	<i>Lactobacillus kefiri</i>
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
<i>Dysgonomonas</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus parakefiri</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus satsumensis</i>
<i>Gluconobacter japonicus</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus uvarum</i>
<i>Halococcus spp.</i>	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>Pseudopantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>
<i>Kazachstania aerobia</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>
<i>Kazachstania exigua</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>
<i>Pelomonas</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Pichia fermentans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces unisporus</i>
<i>Pichia guilliermondii</i>	<i>Saccharomyces martiniae</i>	<i>Shewanella</i>
<i>Pichia kudriavzevii</i>	<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Weissella</i>		

Sumber :Pogačić *et al.*, (2013)

KEFIR KOSMETIK

Seiring perkembangan teknologi dan pengetahuan masyarakat telah ada produk kosmetik kefir yang dapat menjadi solusi menghindari

penggunaan kosmetik dengan tambahan bahan kimia berbahaya. Bahan dasar kefir yang merupakan susu memberikan manfaat yang sangat bagus bagi kulit. Sampai saat ini kosmetik kefir sangat populer sehingga telah banyak produk tersebut tersebar dipasaran terutama di pulau Jawa. Biasanya kefir yang digunakan untuk kosmetik adalah cream kefir dan kefir whey. Berbagai produk kosmetik kefir yang sudah tersebar dipasar diantaranya: Krim wajah, masker kefir, sampo kefir, foundation, cleansing cream, face tonic, sabun kefir dan lain sebagainya.

6.3 YOGURT

PENGERTIAN YOGURT

Yogurt merupakan produk olahan yang diperoleh dari susu yang telah dipasteurisasi kemudian difermentasi dengan bakteri sampai diperoleh keasaman, bau dan rasa yang khas dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diijinkan. Yogurt adalah koagulum susu yang dihasilkan oleh fermentasi asam laktat yang merupakan aktivitas dari *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang secara umum digunakan sebagai starter yogurt dengan perbandingan 1:1 (Jay *et al.*, 2005). Menurut Buckle *et al.* (2007) Yogurt didefinisikan sebagai produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang merombak laktosa menjadi asam laktat. Yogurt merupakan salah satu *therapeutic food* (makanan kesehatan) karena dapat menetralkan kelainan pencernaan akibat konsumsi laktosa (*lactose intolerance*) dan mencegah penumpukan kolesterol dalam darah (Zuriati *et al.*, 2011). Standar Nasional Indonesia (2009) menyatakan yogurt merupakan produk yang diperoleh dari fermentasi susu dan atau susu rekonstitusi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan.

Streptococcus thermophilus merupakan bakteri asam laktat berbentuk bulat atau lonjong. merupakan bakteri gram positif, bersifat anaerob fakultatif (masih toleran terhadap lingkungan dengan kandungan oksigen dalam jumlah terbatas), homofermentatif, membutuhkan nutrisi yang lengkap untuk pertumbuhan dengan suhu optimal sekitar 45°C. *Lactobacillus bulgaricus* adalah bakteri berbentuk batang, homofermentatif, Gram positif, kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan lengkap dengan suhu pertumbuhan optimal 45°C (Tamime dan Robinson, 1999).

STANDAR MUTU YOGHURT

Tabel 18. Syarat Mutu Yogurt Berdasarkan SNI No: 2981:2009

No	Kriteria Uji	Satuan	Yogurt tanpa perlakuan panas setelah fermentasi			Yogurt dengan perlakuan panas setelah fermentasi		
			Yogurt	Yogurt rendah lemak	Yogurt tanpa lemak	Yo-gurt	Yogurt rendah lemak	Yo-gurt tanpa lemak
1	Keadaan							
1.1	Penampakan	-	cairan kental – padat			cairan kental – padat		
1.2	Bau	-	normal/khas			normal/khas		
1.3	Rasa	-	asam/khas			asam/khas		
1.4	Konsistensi	-	Homogen			homogen		
2	Kadar lemak b/b	%	min. 3,0	0,6-2,9	maks 0,5	min 3,0	0,6-2,9	maks. 0,5
3	Total padatan susu bukan lemak b/b	%	Min 8,2			Min 8,2		
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	min 2,7			min 2,7		
5	Kadar Abu b/b	%	maks 1.0			maks 1.0		
6	Keasaman dihitung sebagai asam laktat b/b	%	0,5 – 2,0			0,5 – 2.0		
7	Cemaran logam							
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,3			maks. 0,3		
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks.20,0			maks.20,0		
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks.40,0			maks.40,0		
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	maks.0,03			maks.0,03		
8	Arsen	mg/kg	maks.0,1			maks.0,1		
9	Cemaran mikro-ba							
9.1	Bakteri coliform	APM/g atau Koloni/g	maks 10			maks 10		
9.2	<i>Salmonella</i>	-	negatif/25g			negatif/25g		
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	negatif/25g			negatif/25g		
10	Jumlah bakteri starter	Koloni/g	min 10 ⁷			-		

Sumber : Standar Nasional Indonesia tentang Yogurt (2009)

BAKTERI YOGURT

Kedua bakteri asam laktat dalam pembuatan yoghurt akan lebih optimal jika digunakan secara bersamaan dibandingkan apabila penggunaannya secara tunggal. Masing-masing bakteri memiliki peranan yang berbeda dalam membentuk yogurt. *Streptococcus thermophilus* memfermentasikan laktosa dan menghasilkan asam laktat sehingga menyebabkan rasa asam dan penurunan pH (Rahman *et al.*, 1992). Kondisi tersebut menciptakan suasana yang sesuai untuk pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* yang mulai tumbuh optimum bila pH telah turun sampai 5,5. *Lactobacillus bulgaricus* juga menstimulasi pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* dengan aktifitas proteolitik yang mengubah protein susu menjadi asam amino (threonin, valin, methionin) sehingga terbentuk flavor khas yogurt yang berupa asetaldehid. Selain itu, *Lactobacillus bulgaricus* juga berperan dalam aktivitas lipolitik menghasilkan asam lemak penghasil flavor.

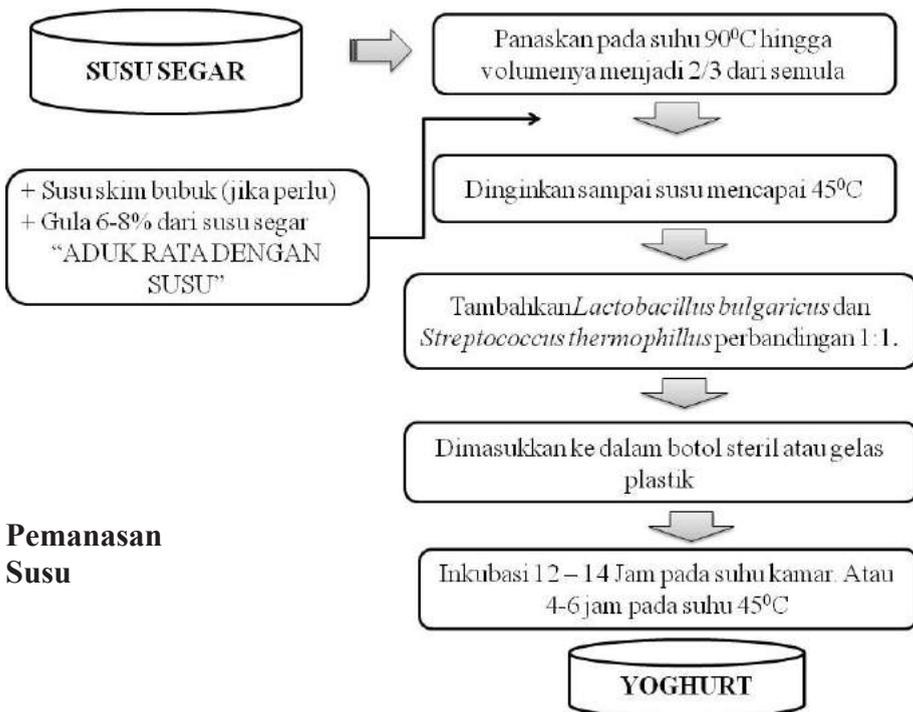
Komponen susu yang paling berperan dalam pembuatan yoghurt adalah laktosa dan kasein. Laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon selama pertumbuhan biakan yoghurt dan proses selanjutnya menghasilkan asam laktat. Terbentuknya asam laktat akan meningkatkan keasaman susu. Kasein yang merupakan bagian terbanyak dalam susu mempunyai sifat sangat peka terhadap perubahan keasaman sehingga dengan menurunnya pH susu menyebabkan kasein tidak stabil dan terkoagulasi menjadi yoghurt (Haferich dan westhoff, 1980).

PROSES PEMBUATAN YOGURT (Modifikasi Saleh, 2004)

Proses pembuatan yogurt menggunakan peralatan yang bersih dan steril. Selama proses pembuatan sebaiknya tidak banyak bicara untuk menghindari kontaminasi. Berikut ini adalah tahapan pembuatan yogurt:

1. Susu dipanaskan pada suhu 70°C hingga volumenya mencapai 2/3 dari volume semula,
2. Tambahkan susu skim dan gula sebanyak 6-8% jika diperlukan, kemudian didinginkan pada suhu 45°C.
3. Starter yogurt ditambahkan sebanyak 2-5%, perbandingan 1:1 antara *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, lalu dilakukan inkubasi pada suhu 42-45°C selama 4-6 jam atau 12 – 14 jam pada suhu kamar.

4. Yogurt siap dikonsumsi dengan atau tanpa penambahan gula, perasa dan buah-buahan, atau dapat disimpan dalam *refrigerator* atau *freezer* menjadi es *yogurt*.



Pemanasan Susu

Gambar 31. Bagan Proses Pembuatan Yogurt
(Modifikasi Saleh, 2004)

MODIFIKASI YOGURT

1. Yogurt dengan penambahan jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*)
Penambahan jamur tiram putih pada pembuatan yogurt merupakan sebagai prebiotik dimaksudkan untuk membantu bakteri probiotik dengan cara meningkatkan viabilitas atau kemampuan hidup dalam sistem pencernaan. Penelitian yang dilakukan oleh Atriani (2007) bahwa penggunaan bubuk jamur tiram putih pada pembuatan yogurt susu sapi sebanyak 0,4% merupakan level terbaik. Begitu pula dengan penelitian Muchtar (2007) bahwa dengan penambahan bubuk jamur tiram putih sebanyak 0,4% dapat meningkatkan viabilitas bakteri asam laktat (BAL). Menurut Aritonang *et al.*, (2011) penambahan bubuk jamur tiram

putih (*Pleurotus ostreatus*) mampu meningkatkan kadar protein, viskositas dan rasa yogurt susu kambing, akan tetapi menurunkan kadar lemak yang dihasilkan. Penambahan bubuk jamur tiram putih dengan konsentrasi 0,3% menghasilkan kualitas yogurtsusu kambing terbaik dan rasanya masih disukai.

2. Yogurt dengan penambahan teh hijau

Teh hijau mengandung komponen nutrisi dan senyawa bioaktif catechin dan theoflavine yang bersifat antibakteri dan berperan membantu menjaga kadar normal lemak dalam darah (kolesterol) (Yamanishi, 1995). Uji organoleptik (rasa, aroma, warna, homogenitas) terhadap yoghurt teh hijau berlemak 10% lebih disukai dibandingkan yoghurt teh hijau skim. Sifat fisik dan kimiawi yoghurt teh hijau berlemak lebih baik dibandingkan teh hijau skim (Khusmiati *et al.*, 2004). Keadaan ini diduga disebabkan oleh adanya perombakan protein dan lemak dalam proses fermentasi yoghurt teh hijau berlemak.

Seperti dilaporkan Abraham *et al.* (1993), bahwa selama proses fermentasi yoghurt terjadi perombakan senyawa nutrisi terutama protein dan lemak oleh adanya aktivitas *L. Bulgaricus* dan *S. Thermophilus* dalam starter yoghurt. Hal ini akan berpengaruh terhadap sifat fisik, kimiawi dan organoleptis yoghurt (Nakazawa dan Hasona, 1992).

3. Yogurt dengan Penambahan susu kedelai

Kombinasi penggunaan bahan baku susu kedelai dan susu sapi pada pembuatan yoghurt, dilaporkan oleh Abubakar dan Syawaludin (2000), bahwa penambahan susu kedelai sebanyak 20% dari jumlah susu sapi yang akan dibuat yoghurt, paling disukai konsumen dan mempunyai karakteristik yoghurt yang optimal. Komposisi nutrisi dan uji organoleptik yoghurt.

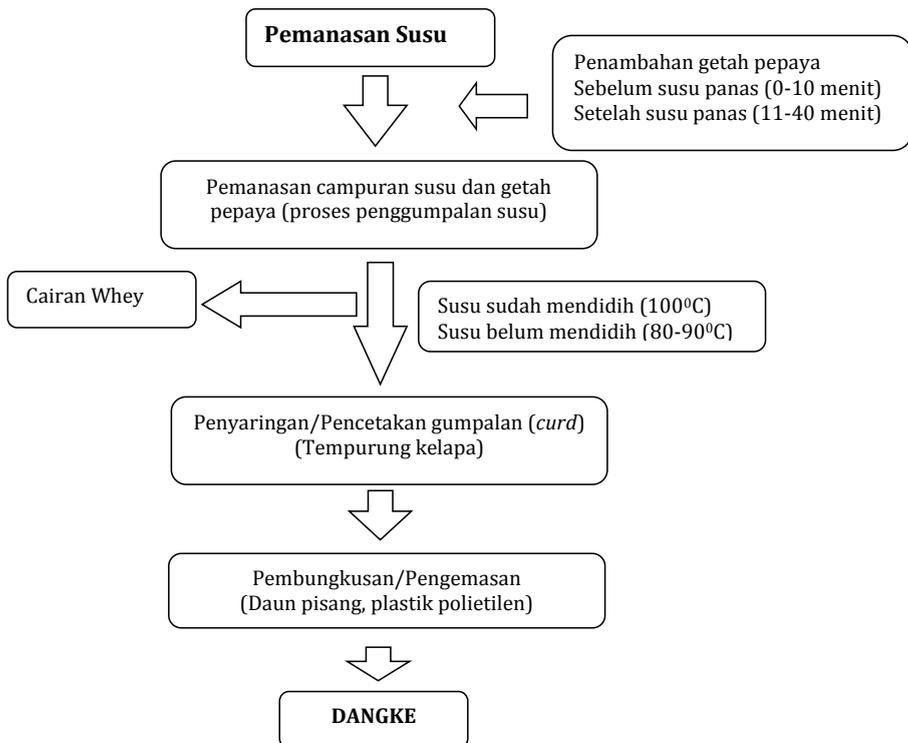
6.4 DANGKE

PENGERTIAN DANGKE

Dangke merupakan produk olahan susu kerbau atau susu sapi secara tradisional yang berasal dari Sulawesi Selatan khususnya Kabupaten Enrekang. Dangke diolah dengan cara dipanaskan dengan api kecil sampai mendidih, kemudian ditambahkan koagulan berupa getah pepaya (papain) sehingga terjadi penggumpalan. Gumpalan tersebut dimasukkan ke dalam cetakan khusus yang terbuat dari tempurung kelapa sambil ditekan sehingga brothannya terpisah (Nur

et al., 2015). Dangke merupakan produk sejenis keju lunak tanpa pemeraman yang dibuat secara enzimatik melalui proses pemanasan susu dan penambahan getah pepaya sebagai enzim penggumpal susu. Karakteristik dangke adalah berbentuk oval, bertekstur kompak dan kenyal, beraroma susu yang kuat dan terasa gurih, berwarna putih keabuan atau putih kekuningan tergantung pada jenis susu yang digunakan sebagai bahan baku. Dangke dikonsumsi masyarakat Enrekang sebagai lauk pauk ataupun makanan selingan.

PEMBUATAN DANGKE



Gambar 32. Diagram Alir Proses Pembuatan Dangke
(Hatta *et al.*, 2014)

Proses pembuatan dangke susu sapi meliputi tahap : pemanasan susu, penambahan getah pepaya, penyaringan/pencetakan gumpalan (*curd*), dan pengemasan *curd* (Gambar 18). Proses pembuatan dangke tersebut digunakan masyarakat sejak dulu hingga sekarang tanpa mengalami perubahan. Lama pemanasan susu berdasarkan

hasil survei bervariasi mulai 20 sampai 107 menit. Lebih dari 65% produsen menambahkan getah pepaya sebelum susu panas (0-10 menit), sedangkan selebihnya 35% setelah susu panas (11-40 menit). Sebanyak 80% produsen mencetak *curd* setelah cairan mendidih dan selebihnya (20%) menggunakan kekerasan *curd* sebagai patokan *curd* dapat dicetak (suhu cairan 80-90°C). Alat pencetak yang digunakan semua pekerja adalah tempurung kelapa yang pada bagian bawahnya terdapat lubang sebagai jalan keluar *whey*. Lama pencetakan dangke bervariasi mulai 25 menit sampai lebih 10 jam. Tahap akhir proses pembuatan dangke adalah pengemasan dangke dengan daun pisang (Hatta *et al.*, 2014).

BAKTERI ASAM LAKTAT PADA DANGKE

1. *Pediococcus pentosaceus* MSS 1 dan MSS 2

Pediococcus pentosaceus MSS 1 dan MSS 2 memiliki karakter bakteri Gram positif, sel berbentuk bulat (kokus), tetrad, katalase negatif, homofermentatif dan termasuk dalam bakteri mesofilik dengan pertumbuhan optimum pada suhu 37°C dan kemampuan bertahan pada konsentrasi NaCl yang tinggi 6.5%. Kedua spesies ini masih mampu bertahan pada suhu 45 °C dan memiliki penghambatan pertumbuhan pada suhu 10 °C. Menurut Ray (2003) *Pediococcus* merupakan sel bulat dan membentuk tetrad, tetapi dapat hidup berpasangan, termasuk gram positif, tidak motil, tidak berspora, dan tergolong bakteri anaerob fakultatif. Bergantung pada spesiesnya, bakteri ini mampu memfermentasi sukrosa, arabinosa, ribosa, dan xylosa.

2. *Lactobacillus plantarum* DU15, *Enterococcus faecium* DU55, dan *Leuconostoc mesentroides* DU02.

Razak *et al.* (2009) menyatakan bahwa isolasi bakteri asam laktat dari dangke asal Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan menghasilkan 30 isolat dan sebanyak 3 isolat menghasilkan senyawa antimikroba yang masing-masing diidentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* DU15, *Enterococcus faecium* DU55, dan *Leuconostoc mesentroides* DU02. Pengujian aktivitas antimikroba bakteri tersebut dilakukan terhadap bakteri uji patogen *Salmonella typhimurium* FNCC 0050.

KOMPOSISI KIMIA DANGKE

Tabel 19. Komposisi Kimia Dangke Susu Sapi Kabupaten Enrekang

No	Komposisi kimia	Minimal	Maksimal	Rataan
1	Kadar air (%)	49,3	62,4	55,0
2	Kadar abu (%)	1,9	2,4	2,1
3	Kadar lemak (%)	8,8	21,6	14,8
4	Kadar protein (%)	15,7	33,3	23,8
5	pH	6,3	6,5	6,4

Sumber: Hatta *et al.*, (2014)

6.5 MENTEGA

PENGERTIAN MENTEGA

Mentega berdasarkan SNI 01-3744-1995 (1995) adalah produk makanan berbentuk padat lunak yang dibuat dari lemak atau krim susu atau campurannya dengan atau tanpa penambahan garam (NaCl) atau bahan lain yang diizinkan dan maksimal mengandung 80 % lemak susu. Spreer (1998) menyatakan, mentega merupakan emulsi air dalam minyak dengan kira-kira 18% air terdispersi didalam 80% lemak dengan sejumlah kecil protein yang bertindak sebagai zat pengemulsi (emulsifier). Mentega merupakan lemak makanan dengan flavor dan cita rasa yang enak dan khas. Ciri khas ini pada dasarnya merupakan komposisi alami dari lemak susu yang dihasilkan melalui proses biokimia. Mentega mudah dicerna dan dimanfaatkan oleh tubuh (>90%) karena kemampuan mentega mencair yang mendekati temperatur tubuh. Mentega mengandung vitamin yang dapat larut dalam lemak, terutama vitamin A.

Menurut Hettinga (2005), mentega adalah salah satu bentuk pengawetan komponen lemak susu. Karakteristik tekstur mentega secara signifikan tergantung pada komposisi lemak susu dan metode pembuatannya. Jika komposisi kimia dari lemak mentega diketahui, maka akan memudahkan untuk memilih parameter teknologi yang tepat pada pembuatan mentega guna memperbaiki teksturnya.

sample andalas university press (percetakan unand)

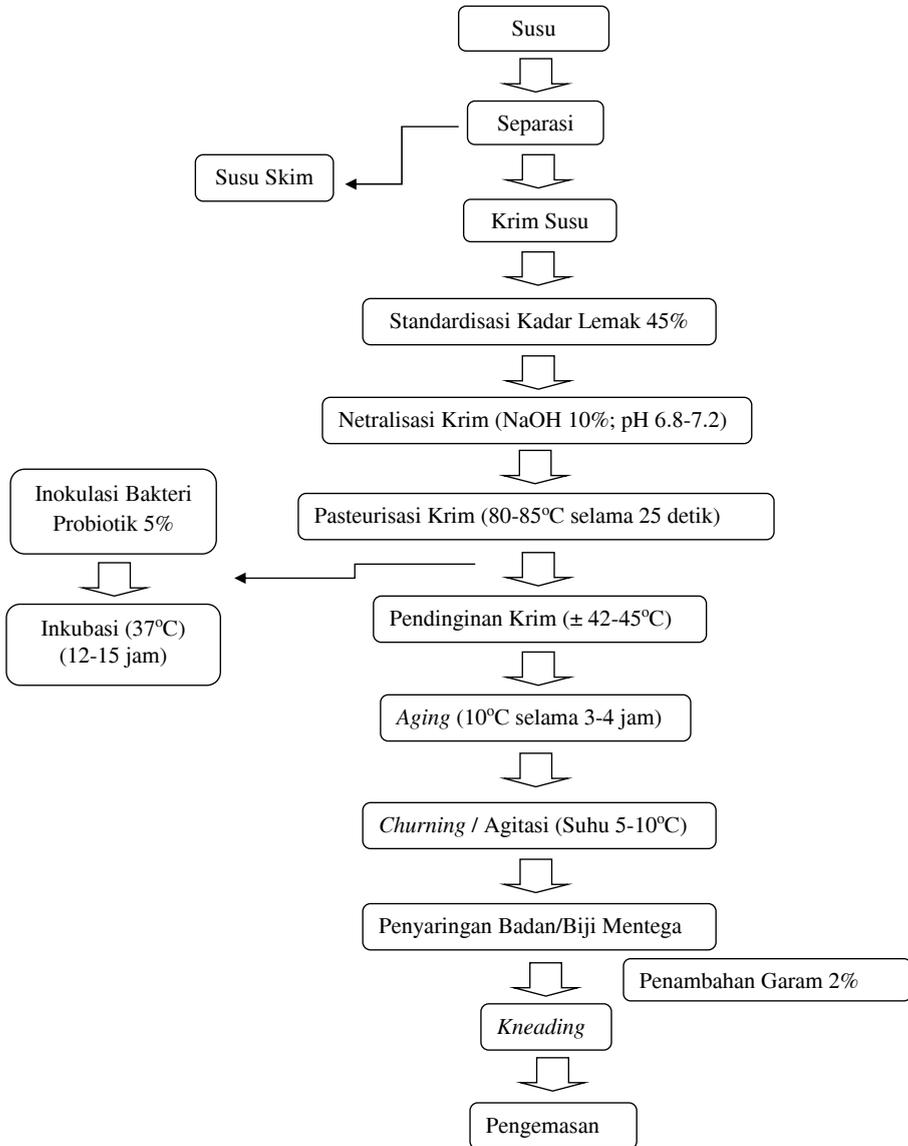
SYARAT MUTU MENTEGA

Tabel 20. Syarat Mutu Mentega

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau		Normal
1.2	Rasa		Normal
1.3	Penampakan pada suhu dibawah 30°C		Normal
2	Air	%, b/b	Maks 16,0
3	Lemak susu	%, b/b	Min 80,0
4	Asam lemak bebas sebagai asam butirat	%, b/b	Maks 0,5
5	Bilangan reichert Meissel		23 - 32
6	Bilangan Polenske		1,6 - 3,5
7	Garam dapur (NaCl)	%, b/b	Maks 4
8	Bahan tambahan Makanan	-	Sesuai SNI 01-0222-1995 dan peraturan men. Kes No. 722/ Men. Kes/per/IX/88
9	Cemaran Logam		
9.1	Besi (Fe)	mg/kg	maks. 1,5
9.2	Tembaga (Fe)	mg/kg	maks. 0,1
9.3	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,1
9.4	Seng (Zn)	mg/kg	maks. 40,0
9.5	Raksa (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
9.6	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0/250
9.7	Arsen (AS)	mg/kg	maks. 0,1
11	Cemaran Mikroba		
11.1	<i>Saureus</i>	Koloni/g	maks. $1,0 \times 10^2$
11.2	<i>Salmonella</i>	Koloni/ 100g	negatif

Sumber : SNI 01-3744-1995 (1995)

CARA PEMBUATAN MENTEGA



Gambar 33. Diagram Alir Pembuatan Mentega
(Modifikasi Varnamdan Sutherland, 1994)

6.6 ES KRIM

PENGETERIAN ES KRIM

Es krim merupakan produk makanan manis yang mengandung lemak susu dan padatan susu tanpa lemak dan dibekukan saat dikocok dengan tujuan untuk penangkapan udara (Goff and Hartel, 2004). Definisi es krim yang tertuang dalam SNI 01-3713-1995 adalah jenis makanan semi padat yang dibuat dengan cara pembekuan tepung es krim dari campuran susu, lemak hewani, maupun nabati, gula, dengan atau tanpa bahan tambahan makanan lain dan bahan makanan lain yang diizinkan (BSN, 1995).

SYARAT MUTU ES KRIM

Tabel 21. Syarat Mutu Es Krim

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Penampakan	-	normal
1.2	Bau	-	normal
1.3	Rasa	-	normal
2	Lemak	%b/b	min 5,0
3	Gula dihitung sebagai sakarosa	%b/b	min. 8,0
4	Protein	%b/b	min. 2,7
5	Jumlah padatan	%b/b	min. 34
6	Bahan tambahan makanan		
6.1	Pewarna tambahan	Sesuai SNI 01-0222-1982	
6.2	Pemanis buatan	-	Negative
6.3	Pemantap dan pengemulsi	Sesuai SNI 01-0222-1982	
7	Cemaran Logam		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks.1.0
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 20,0
8	Cemaran arsen	mg/kg	maks.0,5
9	Cemaran Mikroba		
9.1	Angka Lempeng Total	Koloni/g	Maks 10 ⁵
9.2	Coliform	APM/g	< 3
9.3	Salmonella	koloni/25g	Negative
9.4	Listeria spp	koloni/25g	Negative

Sumber : Badan standardisasi Nasional SNI 01-3713-1995 (1995)

PEMBUATAN ES KRIM

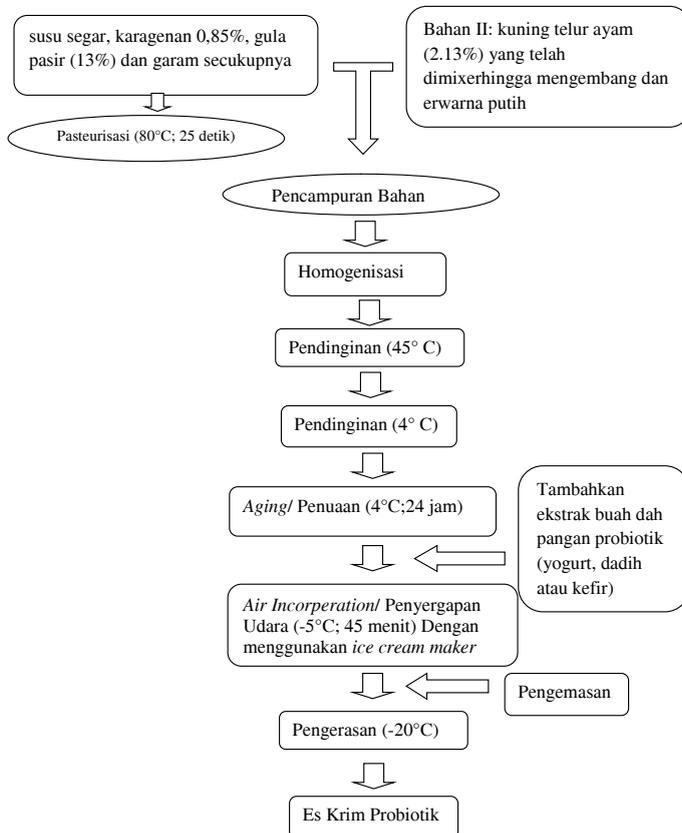
Kemajuan teknologi menawarkan berbagai macam inovasi baru dalam pembuatan es krim. Paling populer saat ini adalah es krim probiotik dengan penambahan pangan fungsional seperti yoghurt, Dadiah, kefir dan banyak lagi pangan tambahan yang berpengaruh baik terhadap kesehatan. Adapun akan dijelaskan cara pembuatan es krim.

Es krim probiotik dibuat dengan tahapan sebagai berikut modifikasi Buckle *et al.* (2007)

1. Pencampuran bahan cair. Panci berisi bahan-bahan cair dipanaskan sampai kira-kira 40-50°C, lalu bahan-bahan kering seperti gula, garam dan bahan penstabil ditambahkan dan dicampurkan supaya larut dengan baik. Campuran bahan untuk adonan es krim dipanaskan hingga suhu $\pm 80^\circ\text{C}$ selama 30 menit dengan tujuan untuk mengatasi masalah kontaminan baik dalam bentuk sel vegetatif atau spora- sporanya yang dapat berasal dari susu atau pemanis gula. Bila hanya diaplikasikan proses pasteurisasi spora-spora masih mampu bertahan, terlebih bila terlindungi oleh lemak.
2. Homogenisasi dilakukan ketika campuran masih panas. Homogenisasi dilakukan dengan mixer selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Homogenisasi berfungsi untuk mengurangi waktu yang diperlukan bagi “pematangan” campuran dan mempengaruhi kekentalan, sehingga akan memperbaiki tekstur dan massa (body) es krim.
3. Campuran adonan es krim tersebut kemudian didinginkan hingga suhu mencapai $\pm 4^\circ\text{C}$, lalu dilanjutkan dengan proses pematangan di dalam refrigerator selama 16-24 jam (rata-rata 20 jam). Proses ini disebut juga dengan *aging*.
4. Pembuatan probiotik berbahan susu (yogurt, kefir, atau Dadiah) dicampurkan dengan buah sesuai selera lalu dihaluskan dengan *blender* hingga tercampur rata kemudian didinginkan terlebih dahulu selama 16-24 jam di dalam *refrigerator*.
5. Adonan es krim dan probiotik tambahkankemudian dihomogenisasi sebelum dilakukan proses penangkapan udara (air incorporation).
6. Pembekuan dan pembuihan menggunakan *ice cream maker* selama 45 menit untuk memberikan pengaruh penting pada tekstur es krim untuk mengembang dan mengeras. Tujuannya adalah membekukan sampai suhu terendah secepat mungkin

serta mendapatkan kenaikan volume es krim atau *overrun* yang cukup selama pembekuan, akibat penyatuan gelembung udara yang halus dalam proses pembuihan. *Overrun* biasanya mencapai kira-kira 100%-120% untuk mendapatkan tekstur yang paling diharapkan. Pembekuan dan pembuihan merupakan suatu proses yang terus menerus pada suhu -10°C . Pembekuan harus dilakukan secepat mungkin untuk menghindari terbentuknya kristal es yang besar, sehingga tidak mendapatkan tekstur es krim yang kasar.

7. Pengemasan dilakukan segera pada saat es krim dikeluarkan dari *ice cream maker*. Es krim harus segera dikemas dan dipindahkan ke freezer untuk proses pengerasan atau *hardening* pada suhu yang dipertahankan yaitu -20 sampai -50°C selama 24 jam.



Gambar 34. Diagram alir Proses Pembuatan Es Krim (Modifikasi Buckle et al., 2007)

Kerusakan Pada Es Krim

Beberapa hal yang penting diperhatikan untuk mengetahui kerusakan es krim adalah dari segi aroma, tekstur, warna, kemasan dan kualitas mencair (*melting quality*).

Kerusakan flavor pada es krim diketahui melalui tanda berikut:

1. Apabila ditemui rasa yang tidak diinginkan misalnya dengan menggunakan perasa buatan sehingga tidak sama dengan rasa/aroma yang asli.
2. Terlalu tinggi penambahan sirup jagung yang digunakan sehingga menutupi aroma.
3. Bila es krim terasa asam yang disebabkan oleh adanya penambahan bahan yang bersifat asam atau erentuknya asam laktat dari adonan.
4. Rasa es krim yang tidak enak, yang mungkin disebabkan oleh alat yang tidak bersih atau berasal dari susu kualitas rendah.
5. Rasa asin dapat yang ditimbulkan oleh banyaknya MSNF atau pemakaian mentega yang mengandung garam. Kadar garam es krim maksimal adalah 0,1%.
6. Rasa yang terlalu manis disebabkan oleh penggunaan gula yang melebihi 15%.
7. Timbulnya bau yang disebabkan oleh penyimpanan es krim yang terlalu lama, yaitu bau yang berasal dari kardus, buah atau bau kacang pada eskrim.
8. *Oxidized flavor* dapat terjadi apabila adonan es krim bersentuhan langsung dengan aluminium teroksidasi misalnya *copper* atau dengan sinar matahari.
9. Bau yang disebabkan karena pemanasan yang terlalu lama dan kurangnya pengadukan selama pengolahan es krim.

Kerusakan Penampilan dan tekstur pada es krim (*Body and texture defect*):

Body es krim berhubungan dengan kemampuannya untuk tahan mencair bila es krim dikonsumsi, yang tergantung dari komposisi adonan dan jumlah udara selama pembekuan. *Texture* dapat dirasakan pada saat es krim dikonsumsi yaitu melalui kehalusan pada lidah. *Body defects* dapat diklasifikasikan sebagai berikut: Encer (*weak*) atau ada benang halus (*fluffy*), Lembek (*soggy*) tetapi ini bukan merupakan kerusakan yang serius karena konsumen lebih suka body berat dengan

overrun rendah, Bergetah (*gummy*), Rapuh/mudah hancur (*crumbly*), hal ini disebabkan kandungan gula rendah.

Tekstur es krim yang kasar merupakan kerusakan yang sangat serius, penyebabnya adalah:

1. Stabilisasi adonan yang tidak benar
2. Proses homogenisasi tidak tepat
3. Proses pembekuan yang lambat yaitu membiarkan es krim menunggu lama sebelum dimasukkan ke *freezer*, perubahan suhu pada *retail cabinet* dan *freezer* di rumah.

6.7 DADIAH

PENGERTIAN DADIAH

Dadiah adalah makanan khas daerah Sumatera Barat yang diolah melalui proses fermentasi alami air susu kerbau didalam tabung bambu oleh mikroorganisme penghasil asam laktat yang terdapat secara alami pada susu kerbau tersebut (Purwati *et al.*, 2016). Sugitha, *et al.*, (1999) menjelaskan bahwa Dadiah merupakan salah satu produk olahan susu yang diperoleh melalui metode fermentasi secara alami pada suhu kamar selama 48 jam. Dadiah biasanya dimakan untuk sarapan pagi, dicampurkan dengan *ampiang* dan gula kelapa. Dadiah dapat juga dimakan dengan nasi panas dan sambal.

KARAKTERISTIK KIMIA DADIAH

Dadiah merupakan hasil koagulasi dari susu kerbau akibat pemeraman susu pada suhu kamar (27°C). Dadiah memiliki warna putih kekuningan menyerupai seperti tahu. Menurut Sirait (1993), dadiah yang baik akan beraroma khas susu asam, memiliki warna putih dengan konsistensi seperti yoghurt. Dadiah mempunyai cita rasa yang khas yaitu rasa asam dengan aroma perpaduan antara bambu dan susu, dan berwarna putih kekuningan sertas tekstur yang kental. Kandungan nutrisi dadiah bervariasi, bergantung pada daerah produksinya.

Dadiah mengandung 16 asam amino (13 asam amino esensial dan tiga asam amino nonesensial) sehingga dapat menjadi makanan bergizi yang mudah diserap tubuh, dan vitamin A 1,70–7,22 IU/g (Yudoamijoyo *et al.* 1983). Dadiah memiliki kandungan protein dan lemak yang tinggi, yaitu kadar protein rata-rata 6,75%. Tabel 14 menunjukkan komposisi nutrisi dadiah yang dihasilkan dari Kabupaten Agam, Solok (Sirait 1993), dan Sijunjung (Setiyanto *et al.* 2009).

Tabel 22. Komposisi Kimia Dadiah

No	Komposisi Kimia Dadiah	Nilai
1	Kadar air	84,35
2	Protein	5,95
3	Lemak	5,42
4	Karbohidrat	3,34
5	Ph	4,10
6	Keasaman tertitrasi (sebagai asam laktat)	1,28

Sumber : Yudoamijoyo *et al.*,(1983)

Tabel 23. Kualitas Dadiah di Sumatera Barat

No	Jenis bahan/kualitas/parameter	Nilai kualitas
1	Padatan	19,49%
2	Protein	4,30
3	Lemak	9,05
4	Keasaman	1,42
5	Koloni bakteri	106,5 x 10 ³ koloni bakteri

Sumber: Sugitha (1995)

Kualitas dadiah terutama ditentukan oleh kualitas fisik dan kandungan nutrisi serta keasamannya. Dadiah adalah makanan yang mengandung protein dan lemak cukup tinggi, dengan rata-rata kualitas dadiah yang beredar di lima kabupaten (Agam, Lima Puluh Kota, Solok, Tanah Datar, dan Sijunjung) Propinsi Sumatera Barat mengandung protein 4,3%, lemak 9,05%, padatan 19,49%, keasaman 1,42% total asam, dan total bakteri $1,06 \times 10^7$ koloni/ml. Upaya yang dilakukan untuk pengembangan dadiah sebagai pangan olahan susu yang bernilai komersial telah banyak dilakukan.

Beberapa cara yang dapat dilakukan dalam upaya peningkatan kualitas dadiah baik secara fisik, kimia, maupun mikrobiologis adalah: 1) mengganti susu kerbau dengan susu sapi yang diikuti dengan proses pasteurisasi, 2) menggunakan kemasan konvensional sebagai alternatif pengganti bambu dengan kemasan plastik yang lebih steril dan higienis, dan 3) melakukan fermentasi yang terkendali dengan menggunakan starter kultur murni atau kombinasi berbagai starter BAL lainnya (Taufik 2004). Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (1984), pembuatan dadiah dari susu kerbau segar diawali dengan

pasteurisasi susu pada suhu 70°C untuk membunuh bakteri pencemar yang terdapat pada susu. Selanjutnya, susu didinginkan sampai suhu 30°C lalu dimasukkan ke dalam tabung bambu, ditutup daun pisang sehingga kondisi anaerob. Kemudian dilakukan proses fermentasi selama 2 x 24 jam pada suhu ruang.

MIKROBIOLOGI DADIAH

Sirait *et al.* (1995) menyatakan dadiah tradisional dari bahan baku susu kerbau mengandung 73,74% bakteri Gram positif dan 26,26% bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif yang paling dominan adalah *Lactobacillus plantarum* selain itu terdapat bakteri lainnya yaitu *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus agalactiae* dan *Bacillus cereus*. Kelompok bakteri Gram negatif yang terdapat pada dadiah adalah *Eschericia coli* (paling dominan) dan *Klebsiella*.

Hasi penelitian Sumarni (2011) total koloni BAL yng terdapat di lima kabupaten di Sumatera Barat yang didapatkan dengan dihitung menggunakan alat *quebec colony counter* dalam rumus CFU/ gram sebagai berikut:

Tabel 24. Total Koloni BAL Dadiah Dari Lima Kabupaten Di Sumatera Barat

No	Sampel BAL	Total Koloni x 10 ⁷ CFU/g
1	Dadiah Sijunjuang	1,90
2	Dadiah Payakumbuh	1,45
3	Dadiah Sitangkai	2,89
4	Dadiah Solok	2,31
5	Dadiah Lintau	3,38

Sumber: Sumarni (2011)

Pengolahan Dadiah sampai saat ini masih dilakukan secara tradisional dan belum memiliki standar dalam pengolahannya. Dadiah dibuat dari susu kerbau dengan cara dimasukkan ke dalam tabung bambu dan difermentasi secara alami pada suhu ruang selama 24–48 jam. Proses fermentasi ini melibatkan berbagai jenis mikroba yang terdapat pada permukaan tabung bambu bagian dalam, daun penutup termasuk dari susu kerbau yang digunakan. Pada proses fermentasi secara alamiah ini seringkali menghadapi masalah, yaitu sulit mengatur kondisi proses produksi untuk menghasilkan dadiah dengan kualitas yang konsisten. Bakteri asam laktat yang telah diisolasi pada dadiah dapat dilihat pada Tabel 17 berikut:

Tabel 25. Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Pada Dadiah

Genus	Spesies
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. brevis</i> ,
	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> ,
	<i>L. casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. faecalis</i> subsp. <i>Liquefaciens</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ,
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>
	<i>L. casei</i> subsp. <i>Diacetylactis</i>

Sumber: Usmiati dan Risfaheri (2013)

MANFAAT DADIAH UNTUK KESEHATAN

Menurut Sugitha (1995), dadiah dapat dikonsumsi sebagai makanan selingan, pelengkap upacara adat, dan sebagai obat tradisional. Selain itu dadiah diyakini masyarakat mampu untuk menyembuhkan penyakit seperti demam, kurang nafsu makan, dan membantu meningkatkan fertilitas (Sisriyenni dan Zurriyati 2004). Dadiah mengandung BAL yang memiliki potensi sebagai probiotik, yaitu mikroba hidup dapat menempel pada dinding usus dan menguntungkan bagi kesehatan inangnya (Salminen *et al.* 1999). BAL mempunyai pengaruh yang baik untuk kesehatan yaitu BAL mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, menurunkan kolesterol, bersifat antimutagenik, antikarsinogenik, dan antivaginitis, memperbaiki sistem kekebalan tubuh, mencegah sembelit, serta memproduksi vitamin B dan bakteriosin (Pato 2003, Suryono 2003).

Menurut Pato (2003), konsumsi dadiah atau produk yang mengandung BAL dari dadiah berpotensi untuk mencegah kanker terutama kanker usus. Hal ini disebabkan oleh BAL tersebut mampu menurunkan dan menghambat mutagenisitas yang disebabkan oleh makanan. Mekanisme efek antimutagenik berlangsung karena adanya ikatan antara mutagen atau karsinogen dengan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel BAL dalam dadiah. Mutagen dan karsinogen yang terikat oleh bakteri tersebut akan dikeluarkan melalui feses dan air kemih.

CARA MEMBUAT DADIAH

sample andalas university (stakan unand)



Gambar 35. Diagram Alir Proses Pembuatan Dadiah
(Purwati et al., 2016)

PERTANYAAN

1. Jelaskan perbedaan berbagai jenis produk olahan susu berdasarkan BAL yang berperan di dalamnya.
2. Bagaimana peranan susu dan potensinya sebagai pangan probiotik bagi kesehatan.
3. Jelaskan perbedaan kualitas dadiah dari berbagai daerah di Sumatera Barat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang, S. N., E. Purwati dan Y. Fitri. 2011. Effect of White Oyster Mushroom Powder (*Pleurotus ostreatus*) Addition on Goat Milk Yogurt Quality. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2011. Bogor.
- Abraham, A.G., G.L. DE Antoni and M.C. Anon. 1993. Proteolytic activity of *Lactobacillus bulgaricus* grown in milk. *J. Dairy Sci.* 76:1498–1505.
- Abubakar, A. Budi dan H. Harsono. 2000. Pengaruh suhu dan macam susu terhadap mutu yoghurt selama penyimpanan. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Jilid II. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 755–760
- Atriani, R. 2007. Pengaruh Penambahan Bubuk Jamur Tiram Putih Terhadap Kualitas Yogurt. Tesis. Universitas Putra Indonesia.
- Badan Standardisasi Nasional. 1995. SNI 01-3719-1995. Es Krim. Standar Nasional Indonesia, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2006. SNI 01-2970-2006. Susu Bubuk. Standar Nasional Indonesia, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 2981. 2009. Yogurt. Standar Nasional Indonesia, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 01-3744-1995. Mentega. Standar Nasional Indonesia, Jakarta.
- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. 2007. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Vol. 29 No. 2. Bogor
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet dan M, Wotton. 2007. Ilmu Pangan. *Terjemahan*: Hari Purnomo Adiono. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Baskoro. D. 2015. Masyarakat Indonesia lebih suka keju Cheddar. <https://lifestyle.okezone.com/read/2015/04/23/298/1138906>. [Diakses 30 April 2018]
- Ferawati., Erpomen., YF. Kurnia., Reswati dan Khalil. 2017. Implementasi Teknologi Fermentasi Susu Menjadi Kefir Untuk Meningkatkan Pendapatan Peternak di Kota Payakumbuh. Laporan Program Iptek Berbasis Dosen dan Masyarakat. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Andalas, Padang.

- Fox, D. F., T. P. Guinee, T. M. Logan, and P. L. H. McSweeney. 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publisher, Inc., Maryland.
- Goff, H. D dan R. W. Hartel. 2004. Ice cream and frozen desserts. In: Y. H. Hui, P. Cornillon, I. G. Legaretta, M.H. Lim, K. D. Murrell & Wai-Kit Nip (Eds.). *Handbook of Frozen Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Hadiwiyoto, S. 2004. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Liberty, Yogyakarta.
- Halferich, W dan Westhoff. 1980. *All about yoghurt*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Hatta, W., M. B. Sudarwanto., I. Sudirman., R. Malaka. 2014. The Practices Of Hygienic Sanitation In Processing Industries Of Cow Milk Dangke In Enrekang District, South Sulawesi. *Jurnal Veteriner* Vol. 15 No. 1:147-155
- Hatta, W., M. B. Sudarwanto., I. Sudirman., R. Malaka. 2014. Survey on Characteristics of processing and Quality of Dangke Milk Cows in Enrekang District, South Sulawesi. *JITP* Vol. 3 No. 3: 154-161.
- Hettinga D. 2005. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 6th Ed. New York: John Wiley dan Sons.
- Jay, J. M., M. J. Loessner dan G. A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7th Edition. Springer, New York.
- Khusmiati, T, Sumidjah dan R. Handayani. 2004. Pengaruh penambahan teh hijau terhadap sifat fisik dan kimiawi yoghurt. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Komar, N. L., Rika C. H. P. 2009. Thermal Characteristics of Mozzarella Cheese Product (Study on Citric Acid Concentration). *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 10 No.2:78-87.
- Kumpulan Food. 2018. Edam hingga Good Cheese, jenis keju terpopuler dari belanda. <https://kumparan.com/@kumparanfood/edam>. [Diakses 1 Mei 2018]
- Muchtar, L. 2007. Pengaruh Waktu Penyimpanan terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Yogurt Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreotus*). Tesis. Universitas Putra Indonesia.
- Mufidah, Z. 2017. The Process og making Cheese mozarella. <http://zumrotulmufidah48.blogspot.co.id/2017/11/keju-mozarella.html>. [Diakses 2 Mei 2018]
- Muhandri, T. dan D. Kadarisman. 2006. *Sistem Jaminan Mutu Industri Pangan*. Institut Pertanian Bogor Press, Bogor.

- Mulyani, S., Azizah, A dan Legowo A. M. 2009. Profil kolesterol, kadar protein, dan tekstur keju menggunakan *Mucor miehei* sebagai sumber koagulan. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan. Semarang.
- Mustakim, R. F. Muarifah, K.U., Awwaly, A .2006. Pembuatan Keju dengan Menggunakan Enzim Renin *Mucor pusillus* amobil. Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan Vol.19 No. 2: 137-149.
- Nakazawa, Y. and A. Hasona. 1992. Function of fermented milk. Elsevier Applied Science. London.
- Nur, F., Hafsan dan Andi, W. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik pada Dangke, Makanan Tradisional dari Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi. Vol. 3 No.1:60 – 65.
- Otles, S dan O. Cagindi. 2003. A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects Pakistan Journal of Nutrition Vol. 2 No. 2: 54-59.
- Pato, U. 2003. Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Risiko Penyakit Kanker. Jurnal Natur Indonesia 5(2): 162-166.
- Pogačić. T., Sanja. Š., Šimun. Z., Dubravka. S. 2013. Microbiota of kefir grains. Review Mljekarstvo Vol. 63 No. 1: 3-14.
- Purwati, E., SN. Aritonang., S. Melia., I. Juliyarsi dan H. Purwanto. 2016. Manfaat Probiotik Bakteri Asam Laktat Dadih Menunjang Kesehatan Masyarakat. Lembaga Literasi Dayak, Tanggerang.
- Putri,R. 2016. Cottage cheese, Si Keju Serba Guna. <https://womantalk.com/food/articles/cottage-cheese>. [diakses 1 Mei 2018]
- Rahman, A., S. Fardiaz., W. P. Rahayu., Suliantari dan C. C. Nurwitri 1992. Teknologi Fermentasi Susu. Penerbit Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahzarni. 2003. Penanganan dan Pengolahan Susu dan Telur. Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Payakumbuh
- Saleh, E. 2004. Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. Digitized by USU digital library. Program Studi Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara
- Salminen, S., A. Ouwehand, Y. Beno, and Y.K. Lee. 1999. Probiotic: How should they be defined. Trends in Food Science and Technology 10 (Issue 3): 107-110.

- Setiyanto, H., W. Broto., Abubakar., S. Usmiati., Miskiyah., S. Yuliani dan A. Edial. 2010. Inovasi teknologi pembuatan starter kering (10^9 cfu/gram/6 bulan) dalam mendukung model produksi susu fermentasi skala 10 liter/hari. Laporan Penelitian. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Sirait, C.H. 1993. Pengolahan susu tradisional untuk perkembangan agroindustri persusuan di pedesaan. Laporan Penelitian. Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor.
- Sirait, C. H., N. Cahyadi, T. Pangabean, dan I. G. Putu. 1995. Identifikasi dan pembiakan kultur bakteri pembuatan Dadiah. Laporan Akhir Kegiatan Penelitian, Program Penelitian Ruminansia Besar, Balai Penelitian Ternak Ciawi, Bogor.
- Sisriyenni, D. dan Y. Zurriyati. 2004. Kajian kualitas Dadiah susu kerbau di dalam tabung bambu dan tabung plastik. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* Vol. 7 No. 2: 171-179.
- Spreer, E. 1998. *Milk and Dairy Product Technology*. A Mixa, penerjemah. New York: Marcel Dekker Inc.
- Sugitha, I. M. 1995. Dadiah makanan tradisional Minang. Manfaat dan khasiatnya. Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional. Kantor Menteri Negara Urusan Pangan, Jakarta. hlm. 532-540.
- Suryono. 2003. Dadiah: Produk Olahan Susu Fermentasi Tradisional yang Berpotensi sebagai Pangan Probiotik. Pengantar Falsafah Sains. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Susilorini, T.E. dan M.E. Sawitri. 2007. Produk Olahan Susu. Penebar Swadaya. Yogyakarta.
- Tamime, A. Y. and R. K. Robinson. 1999. *Yogurt : Science and Technology*. 2nd Edition. Woodhead Publishing, Ltd., Cambridge.
- Toko Kue Sarah. 2016. Macam – Macam Jenis Keju. <http://tokokuesarah.blogspot.co.id/2016/11/macam-macam-jenis-keju.html>. [Diakses 28 April 2018]
- Usmiati, S dan Risfaheri. 2013. Improvement of Dadiah as an Indigenous Probiotic Functional Food of West Sumatra. *J. Litbang Pert.* Vol. 32 No: 20-29.
- Varnam, A.H. and J.P., Sutherland. 1994. *Milk and Milk Product : Technology, chemistry and Microbiology*. Vol 1. Food Product Series. London (GB) : Chapman and Hall.
- Yamanishi, T. 1995. Biochemistry on the chemical component in tea. *Proc. of 95 International Tea-Quality-Human Health Symp.* November 7-10: 31-37. Shanghai, China.

- Yudoamijoyo, R.M., T. Zoelfikar, S.R. Herastuti, A. Tomomatsu, A. Matsuyama, and A. Ozono. 1983. Chemical and microbiological aspect of Dadiah in Indonesia. *Japanese J. Dairy Food Sci.* 32(1): 1-10.
- Zuriati Y, R.R.A. Maheswari dan H. Susanty. 2011. Quality Characteristic of Fresh Milk and Yoghurt from Three Dairy Goat Breeds to Support Food Savety and Food Diversification Program. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2011. Bogor.

sample andalas university press (percetakan unand)

BIODATA PENULIS

Sri Melia, STP, MP. adalah staf pengajar di bidang Teknologi Pengolahan Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas sejak tahun 2002 hingga sekarang. Lahir di Padang, pada Tanggal 4 Juni 1975. Penulis menyelesaikan program S1 di Institut Pertanian Bogor di bidang Teknologi Pangan dan menyelesaikan program S2 di Bidang Teknologi Industri Pertanian, Universitas Andalas. Penulis mengajar pada mata kuliah : Bioteknologi Hasil Ternak, Pangan dan Gizi Hasil Ternak dan Teknologi Hasil Ternak. Saat ini, penulis aktif sebagai anggota Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Penulis mendapatkan dana penelitian dari DRPM melalui Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (2017-2018) dengan nomor kontrak : 050/SP2H/LT/DRPM/2018 yang berkaitan tentang susu sebagai sumber bakteri asam laktat dan potensinya sebagai probiotik, yang lebih lanjut hasil penelitian tersebut dituangkan dalam buku ini. Selain itu penulis juga telah mempublikasikan penelitian-penelitiannya pada Jurnal Nasional dan Internasional, serta banyak mengikuti seminar, baik yang diadakan pada tingkat nasional maupun internasional.

Prof. Drh. Hj. Endang Purwati, MS., Ph.D, adalah Guru Besar bidang bioteknologi, probiotik dan mikro-biologi molekuler di Universitas Andalas dan aktif sebagai staf pengajar di Fakultas Peternakan Universitas Andalas pada program S1, S2 dn S3. Beliau lahir di Salatiga, pada tanggal 17 Maret 1951. Beliau menyelesaikan program S1 di Universitas Airlangga di bidang Kedokteran Hewan, program S2 di Institut Pertanian Bogor di bidang Sains Veteriner, program S3 di Universiti Putra Malaysia di bidang *Food safety*/Mikrobiologi Molekuler/ Bioteknologi. Beliau aktif meneliti dan pengabdian di bidang Peternakan, Kedokteran, Pertanian terutama di Produk-Produk seperti Molekuler, Bioteknologi, Probiotik, Bakteri Asam Laktat (BAL). Aktif dalam menulis jurnal ilmiah nasional dan internasional yang terindek Scopus serta seminar internasional dan nasional dan aktif dalam riset penelitian yang diadakan DRPM, LIPI dan lembaga-lembaga pemerintahan dibidang Peternakan dan Bioteknologi. Sejak tahun 2016 sampai sekarang penulis telah mendapatkan berbagai paten dan Hak cipta buku : “Manfaat Probiotik Bakteri Asam Laktat Dadiah Menunjang Kesehatan Masyarakat” Hingga saat ini penulis masih aktif menulis buku dan pengajuan hak paten.

Indri Juliyarsi, SP., MP, lahir di Bukittinggi, 15 Juli 1976 telah menyelesaikan Pendidikan S1 di Fakultas Pertanian dan S2 di Prodi Teknologi Industri Pertanian di Program Pasca Sarjana Universitas Andalas. Penulis adalah staf pengajar di Bagian Teknologi Pengolahan Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas sejak tahun 2001 sampai sekarang. Mata kuliah yang diampunya adalah Ilmu dan Teknologi Susu, Bioteknologi Hasil Ternak, Pangan dan Gizi Hasil Ternak, Penanganan dan Pengemasan Hasil Ternak serta Teknologi Hasil Ternak. Di samping itu penulis terdaftar sebagai anggota PATPI (Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia).

Drh. H. Yuherman, MS., Ph.D, lahir di Jakarta, pada tanggal 24 November 1959. Beliau aktif sebagai dosen Teknologi Pengolahan Hasil Ternak di Fakultas Peternakan, Universitas Andalas. Beliau adalah dosen pengampu pada mata kuliah Mikrobiologi Terapan, Biologi, Bioteknologi Hasil Ternak, Ilmu Penyakit dan Kesehatan Ternak serta Pangan Fungsional dan Probiotik. Beliau menamatkan program S1 di Institut Pertanian Bogor, bidang Kedokteran Hewan, program S2 di Universitas Gajah Mada bidang Sain Veteriner dan program S3 di Universiti Putra Malaysia (UPM) di bidang Bioteknologi. Hingga saat ini beliau aktif dalam penelitian yang berkaitan dengan mikrobiologi. Penulis merupakan anggota PERMI, dan PDHI (Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia, cabang Sumatera Barat.

Ferawati, S.Pt., MP, lahir di Maninjau, 14 Nopember 1983 merupakan tenaga pendidik dibidang Teknologi Pengolahan Hasil Ternak pada Program Studi Peternakan Kampus Payakumbuh Universitas Andalas. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 di Fakultas Peternakan Universitas Andalas pada tahun 2005 dan S2 Ilmu Ternak di Program Pascasarjana Universitas Andalas pada tahun 2011. Diawali pada tahun 2014 hingga saat ini, penulis mengampu beberapa matakuliah, yaitu Mikrobiologi, Mutu dan Keamanan Pangan Hasil Ternak, Teknologi Hasil Ikutan Ternak dan Bioteknologi Hasil Ternak. Setiap tahunnya penulis secara konsisten dan berkelanjutan melakukan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat di bidang pangan hasil ternak serta telah dipublikasikan pada jurnal nasional dan internasional.

sample andalas university press (percetakan unand)

Hendri Purwano, S.Pt., MSi. Lahir di Dhamasraya, 15 September 1988. Penulis menyelesaikan program S1 Di Fakultas Peternakan Universitas Andalas, bidang ilmu Produksi Ternak, pada tahun 2009 dan menyelesaikan program S2, bidang Bioteknologi, pada tahun 2012 di Universitas Andalas. Penulis aktif melakukan kegiatan penelitian di bidang bioteknologi molekuler dan teknologi pengolahan hasil ternak, serta berperan serta mengikuti seminar nasional maupun internasional.