

**ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI YOGHURT  
KEMASAN YANG BERSIFAT ANTIBAKTERI TERHADAP  
*Escherichia coli* DAN *Salmonella typhi***

Ike Yuliana<sup>1</sup>, Rodesia M. Roza<sup>2</sup>, Atria Martina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi SI Biologi, FMIPA UR

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Biologi FMIPA-UR

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

e-mail : iyuliana35@yahoo.co.id

### **ABSTRACT**

Yoghurt is a fermented product of a group of lactic acid bacteria (LAB) on milk that has been pasteurized. LAB is a group of bacteria that are able to convert carbohydrates (glucose) into lactic acid. LAB produces metabolites that inhibit the growth of pathogenic bacteria. This study aimed to isolate LAB from yoghurt packaging with its inhibitory against bacterial pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. LAB was isolated from 9 samples with 3 brand products and 3 different flavors. Calculation of the total population to the overall LAB samples was obtained between  $6.4 \times 10^6$  cfu/ml to  $2.1 \times 10^7$  cfu/ml. In this study, inhibition test of pathogenic bacteria *E. coli* and *S. typhi* used samples yoghurt. The method used is the well-agar diffusion. The most effective yoghurt in inhibiting *E. coli* was yogurt Ab with diameter of inhibiting zone 23.55 mm, while the yogurt sample that had the highest inhibitory zone which is 19.93 mm for *S.typhi* was yoghurt Ap.

Keywords: yoghurt, lactic acid bacteria, antibacterial, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*.

### **ABSTRAK**

Yoghurt adalah produk hasil fermentasi dari sekelompok bakteri asam laktat (BAL) terhadap susu yang telah dipasteurisasi. BAL adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. BAL menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dari yoghurt kemasan yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. BAL diisolasi dari 9 Sampel dengan 3 merek produk dan 3 rasa yang berbeda. Perhitungan total populasi BAL terhadap keseluruhan sampel diperoleh antara  $6,4 \times 10^6$  cfu/ml -  $2,1 \times 10^7$  cfu/ml. Dalam penelitian ini uji penghambatan bakteri patogen *E. coli* dan *S. typhi* menggunakan sampel yoghurt. Metode yang digunakan adalah difusi sumur agar. Sampel yoghurt paling efektif menghambat *E. coli* adalah yoghurt Ab yaitu 23,55 sedangkan sampel yoghurt yang memiliki zona hambat tertinggi pada *S. typhi* adalah Ap dengan diameter zona hambat 19,93 mm.

Kata Kunci: yoghurt, bakteri asam laktat, antibakteri, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*.

## PENDAHULUAN

Yoghurt adalah produk hasil fermentasi sekelompok bakteri asam laktat (BAL) terhadap susu yang telah dipasteurisasi (Surajudin *et al.*, 2006). Beberapa manfaat yoghurt yang ditimbulkan oleh BAL dalam yoghurt yaitu mengatasi laktosa intoleran (Surajudin *et al.*, 2006), menurunkan kadar kolesterol (Suarsana *et al.*, 2005), menyeimbangkan sistem pencernaan (Shah 1999), mencegah kanker (Surajudin *et al.*, 2006) dan mengatasi infeksi jamur dan bakteri (Felley *et al.*, 2003).

BAL merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba, dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi produktivitasnya (Indriati, 2010). Sifat yang terpenting dari BAL adalah kemampuannya untuk merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dihasilkan asam laktat (Fardiaz, 1992). Pemberian BAL dapat menurunkan pH bahan pangan, penurunan pH tersebut dapat memperlambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk (Buckle *et al.*, 1987). BAL juga dapat menghasilkan senyawa bersifat antibakteri (Ruzana, 2011). Efek antimikroba BAL secara umum disebabkan karena produksi asam laktat yang menurunkan pH lingkungan.

Saat ini telah muncul perkembangan yang pesat dalam produk fermentasi yang dikaitkan dengan kesehatan yang dikenal sebagai probiotik. Probiotik yang umumnya adalah BAL yang menjanjikan berbagai manfaat bagi kesehatan antara lain mengatur flora usus manusia dimana jenis BAL yang menguntungkan seperti *Bifidobacteria longum* dan *Lactobacillus acidophilus* akan mendominasi sehingga bakteri enteropatogen dapat ditekan pertumbuhannya (Pelczar dan Chan, 1988). Beberapa bakteri enteropatogen yang dapat menyebabkan diare antara lain Enteropatogenic *E. coli* (EPEC) dan *S. typhimurium*. Oleh karena itu, dilakukan penambahan probiotik ke dalam produk yogurt sehingga bermanfaat dalam mencegah atau menghambat bakteri penyebab diare (Salminen *et al.*, 1998).

Saat ini, produk yoghurt telah banyak dikenal dan diminati masyarakat luas. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menguji kandungan BAL yang terdapat pada yoghurt serta uji aktivitas antibakterinya.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Mei hingga Desember 2013 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau. Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, pipet mikro, labu Erlenmeyer, jarum ose, Bunsen, aluminium foil, kertas label, kapas, kain kasa, bunsen, *vortex*, mikroskop, fotomikrografi, autoklaf, *colony counter*, tabung durham, gelas ukur, gelas objek, *beaker glass*, refrigerator, oven, timbangan digital, sentrifuge, kamera, *sprayer*, plastik. Bahan-bahan yang digunakan adalah Sampel yoghurt, medium *Nutrient Agar*, medium *Nutrient Broth*, medium *de Man Rogosa and Sharpe* (MRS), akuades, Kristal Violet, Iodin, Alkohol 70 %, Safranin, *Phenol Red*, Glukosa, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %, CaCO<sub>3</sub> 1%, NaCl, Asam sitrat, dan KOH .

### **Desain Penelitian**

Isolasi dan total populasi BAL dilakukan dengan metode *pour plate*, Isolat BAL dikarakterisasi morfologinya secara makroskopis dan mikroskopis serta dikarakterisasi dengan uji fisiologi dan biokimia, selanjutnya seleksi isolat BAL dan sampel Yoghurt terhadap bakteri patogen *E.coli* dan *S.typhi* dilakukan dengan metode difusi sumur agar.

### **Total Populasi BAL**

Total populasi bakteri (dalam CFU- *colony forming unit*) dihitung pada medium MRS. setiap 1 ml sampel susu ditambahkan 9 ml buffer PBS dan divortek. Sebanyak 1ml larutan sampel dengan faktor pengenceran antara  $10^{-4}$ - $10^{-6}$  diinokulasikan ke medium MRS dengan metode tuang (*pour plate*). Diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Diamati dan dihitung koloni yang tampak setiap hari, kemudian dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan populasi koloni yaitu (Hadioetomo, 1993).

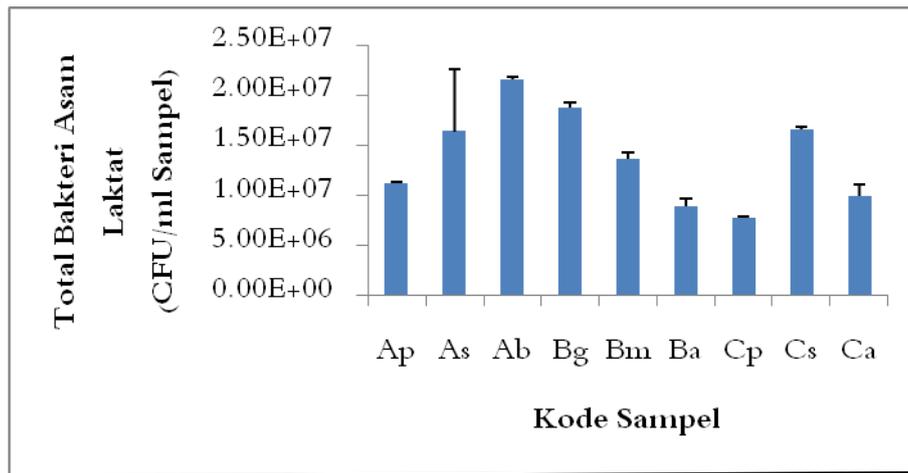
### **Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Bersifat Antibakteri dengan Metode Sumur Agar Menggunakan Sampel Yoghurt (modifikasi Wolf and Gibbon, 1996)**

*Nutrient Agar* (NA) yang telah disterilisasi didinginkan sampai suhu  $45^{\circ}\text{C}$ . Kultur masing-masing bakteri pathogen indikator yang berumur 24 jam dimasukkan kedalam NA sebanyak 30  $\mu\text{l}$  untuk setiap 15 ml NA. Selanjutnya dibuat agar cawan dengan ketebalan 4-5 mm. Dibuat 4 sumur pada agar tersebut dengan diameter 6 mm. Kemudian kedalam masing-masing sumur dimasukkan 30  $\mu\text{l}$  kultur BAL (sebelumnya ditumbuhkan dalam MRSB, dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 12 jam). Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 - 48 jam dengan posisi cawan keatas. Diamati adanya penghambatan dan diukur diameter penghambatan dalam mm menggunakan alat ukur jangka sorong.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Total Bakteri Asam Laktat**

Total BAL pada 9 sampel yoghurt kemasan dapat dilihat pada Gambar 1, perhitungan total BAL dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Pada hasil pengamatan total populasi BAL dari 9 Sampel yoghurt kemasan diperoleh total populasi antara  $6,4 \times 10^6$  cfu/ml -  $2,1 \times 10^7$  cfu/ml. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (2009), bahwa jumlah minimal total BAL yang terdapat pada yoghurt adalah  $10^7$  cfu/ml. Dari hasil penelitian ini Sampel yang sesuai SNI yaitu sampel Ap, As, Ab, Bg, Bm dan Cs tetapi hasil perhitungan total populasi BAL pada yoghurt dengan kode sampel Ba, Cp dan Ca lebih rendah dari ketentuan SNI yaitu total populasi BAL diperoleh  $10^6$  cfu/ml. Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor komposisi kimia yoghurt, jumlah inokulum, temperatur yoghurt, waktu inkubasi, nutrisi, waktu pendinginan yoghurt dan lama penyimpanan yoghurt.



Gambar 1. Total populasi bakteri asam laktat pada Yoghurt Kemasan.

Berdasarkan Gambar 1 nilai total populasi BAL tertinggi terdapat pada sampel Ab yaitu  $2,1 \times 10^7$  cfu/ml dan total populasi BAL terendah pada sampel Cp yaitu  $7,7 \times 10^6$  cfu/ml. Rendahnya hasil perhitungan total populasi BAL pada sampel dalam penelitian ini dimana total populasi hanya mencapai  $10^6$  cfu/ml dapat dipengaruhi oleh suhu dan lama penyimpanan yoghurt. Penurunan total populasi BAL pada fermentasi ini karena pertumbuhan BAL pada proses fermentasi mengalami beberapa fase (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan hasil penelitian total populasi BAL, total koloni BAL yang diperoleh mengalami penurunan dimana total awal koloni BAL yang berkisar antara  $10^7 - 10^{11}$  cfu/ml menjadi  $10^6 - 10^7$  cfu/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Septiani (2013) pada proses pembuatan *frozen yoghurt* bahwa total BAL mengalami penurunan dari T0 sebesar  $8,38 \log$  cfu/ml menjadi  $8,34 \log$  ( $2,2 \times 10^8$ ) cfu/ml (T1) dan pada T1 sebesar  $8,34 \log$  ( $2,2 \times 10^8$ ) cfu/ml menjadi  $7,79 \log$  ( $6,3 \times 10^7$ ) cfu/ml (T2), dimana singkatnya waktu fermentasi dan proses pembekuan juga dapat menjadi penyebab penurunan jumlah BAL. Jay *et al.*, (2005), melaporkan bahwa yoghurt yang baru diproduksi mengandung sekitar  $10^9$  cfu/g, akan tetapi selama penyimpanan, jumlah tersebut akan menurun menjadi sekitar  $10^6$  cfu/g, khususnya ketika disimpan pada suhu  $5^\circ\text{C}$  selama 60 hari.

Penelitian Kusumaningrum (2011) dari yoghurt kontrol, yoghurt jagung dan yoghurt kombinasi, selama penyimpanan pada jam ke-8 terjadi penurunan secara drastis pada jam ke-10 sampai jam ke-12. Frazier dan Weshoff (1978) mengatakan bahwa keadaan dingin biasanya mengakibatkan penurunan dalam jumlah besar suatu mikroorganisme yang hidup dalam suatu makanan.

Berdasarkan hasil pengamatan total populasi BAL pada yoghurt plain (sampel Ap dan Cp) dengan yoghurt yang ditambah perisa buah, didapatkan bahwa yoghurt dengan penambah perisa buah diperoleh total BAL yang lebih tinggi dibandingkan dengan yoghurt plain. Sedangkan rata-rata pada label di setiap kemasan tertera total koloni BAL pada yoghurt plain lebih banyak dibandingkan dengan yoghurt yang ditambah perisa buah, perbedaan hasil perhitungan total koloni BAL pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan lama penyimpanan sampel yoghurt yang digunakan.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Hidayat (2013) yang menambahkan ekstrak buah Mangga dengan total BAL rata-rata  $10^7$  cfu/ml. Menurut penelitian yang dilakukan Vinderola *et al.*, (2002) bahwa penambahan perisa dari strawberri, vanilla atau pisang hanya berpengaruh terhadap sedikit strain bakteri pada yoghurt yaitu *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Sedangkan menurut penelitian Kailasapathy *et al.*, (2008) terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah *L. acidophilus* diantara berbagai jenis yoghurt.

Penurunan total populasi BAL pada fermentasi ini karena pertumbuhan BAL pada proses fermentasi mengalami beberapa fase (Fardiaz, 1992). Fase pertumbuhan BAL akan mengalami peningkatan dan penurunan jumlah BAL dalam produk yoghurt. Peningkatan dan penurunan total BAL ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jumlah nutrisi relatif tinggi (terutama gula), proses fermentasi (suhu, waktu inkubasi) dan sinergi antara BAL. BAL juga mengalami fase penurunan, yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti nutrisi dalam media sudah banyak dimanfaatkan dan terbentuknya hasil metabolit. Penambahan perisa buah akan mempengaruhi peningkatan atau penurunan total BAL.

#### **Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Bersifat Antibakteri dengan Metode Sumur Agar Menggunakan Sampel Yoghurt**

Sumuran yang dibuat untuk masing-masing bakteri uji adalah 4 sumuran, pengukuran diameter zona hambat dilakukan pada inkubasi 24-48 jam. Pengelompokan kriteria didasarkan pada Indu *et al.*, (2006) yaitu kriteria tinggi (>16 mm), sedang (12 -16 mm) atau tidak ada aktivitas antibakterinya (< 12 mm).

Berdasarkan hasil pengamatan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. typhi* menggunakan sampel yoghurt, secara deskriptif diperoleh penghambatan *E. coli* (15.05 mm – 23.55 mm) lebih besar dibandingkan penghambatan terhadap *S. typhi* yaitu (11.38 mm – 19.93 mm). Sampel yang mempunyai penghambatan terbesar terhadap *E. coli* yaitu sampel Ab sebesar 23.55 mm sedangkan yang mempunyai penghambatan terbesar terhadap *S. typhi* yaitu sampel Ap sebesar 19.93 mm (Tabel 1). Berdasarkan penelitian Poeloengan (2011) pada yoghurt probiotik, *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang paling sensitif terhadap antimikroba yoghurt kedua produk (yoghurt A dan B) dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9.07 mm.

Tabel 1. Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri dari Yoghurt.

Kode Isolat	Diameter Hambat <i>E. coli</i> (mm)	Kriteria Daya Hambat	Diameter Hambat <i>S. typhi</i> (mm)	Kriteria Daya Hambat
Ap	21,45	Tinggi	19,93	Tinggi
As	15,05	sedang	17,39	Tinggi
Ab	23,55	Tinggi	18,80	Tinggi
Bg	15,64	Sedang	11,38	Tidak ada aktivitas
Ba	15,05	Sedang	11,98	Tidak ada aktifitas
Bm	-	Tidak ada aktifitas	17,83	Tinggi
Cp	19,68	Tinggi	13,01	Sedang
Cs	15,92	Sedang	-	Tidak ada aktivitas
Ca	21,77	Tinggi	15,03	Sedang

Aktivitas antibakteri BAL dengan menggunakan isolat BAL dan sampel yoghurt terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. typhi*, penghambatan terbesar terhadap bakteri patogen diperoleh pada uji aktivitas yang menggunakan isolat BAL dibanding dengan yang menggunakan sampel yoghurt secara langsung. Hal ini dapat dipengaruhi oleh pH, nutrisi, dan lama penyimpanan yoghurt. Menurut Pelczar dan Chan (1988) faktor yang dapat mempengaruhi penghambatan dan pembasmian mikroba oleh bahan atau proses antimikrobia yaitu konsentrasi zat antimikroba, jumlah mikroba, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik, dan pH.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap BAL dari yoghurt kemasan, diperoleh total BAL dan seleksi BAL yang bersifat antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. typhi*, yaitu total bakteri asam laktat dari sembilan sampel berkisar antara  $6,4 \times 10^6$  cfu/ml -  $2,1 \times 10^7$  cfu/ml. Total populasi BAL tertinggi terdapat pada sampel Ab yaitu  $2,1 \times 10^7$  cfu/ml dan total populasi BAL terendah pada sampel Cp yaitu  $7,7 \times 10^6$  cfu/ml. Diameter zona hambat dari sampel yoghurt terhadap bakteri uji *E. coli* berkisar antara (15,05 mm – 23,55 mm) sedangkan terhadap *S. typhi* yaitu (11,38 mm – 19,93 mm). Sampel yang mempunyai penghambatan terbesar terhadap *E. coli* yaitu Ab sebesar 23,55 mm sedangkan sampel yang mempunyai penghambatan terbesar terhadap *S. typhi* yaitu Ap sebesar 19,93 mm. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap yoghurt kemasan berdasarkan lama penyimpanan (*expired*) dari yoghurt dan pada suhu yang berbeda.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala dan Laboran Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau atas pemberian izin penggunaan fasilitas laboratorium selama penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Buckle, K.A., Edward, R.A., Fleet, G.H., Wooton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Terjemahan: H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Felley, C and Michetti P. 2003. Probiotics and *Helicobacter pylori*. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*17(5):785-91.
- Frazier, W.C., Westhoff, D.C. 1978. *Third Edition*. Tata Mc Graw Hill New Delhi. Food Microbiology Publ. Co. Inc, New Delhi.
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Gramedia, Jakarta.
- Hidayat IR, Kusrahayu, Mulyani S. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Sifat Organoleptik *Drink Yoghurt* dari Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Buah Mangga. *Animal Agriculture Journal*. 2 (1): 160 – 167.

- Indriati, A.S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Susu Formula Balita yang Berpotensi Menghasilkan Substansi Antimikroba. [Skripsi] Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta
- Indu, M.N., Hatha, A.A.M., Abirosh, C., Harsha, U., Vivekanandan, G. 2006. Antimicrobial activity of some South-Indian soecies against serotypes of *Eschericia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Acromonas hydrophila*. *Brazilian Journal of Biotechnology*. 37:153-158.
- Jay JM, MJ Loessner dan GA Golden. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7<sup>th</sup> Edition. Springer, New York.
- Kailasapathy, K., Harmstorf, I., Phillips, M. (2008). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* in stirred fruit yogurts. *Lwt-Food Sci.Technol*. 41(7): 1317-1322.
- Kusumaningrum, A.P. 2011. Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe dengan Variasi Substrat. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Edisi ke-2. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Poeloengan, M. 2011. Pengujian Yoghurt Probiotik pada Pertumbuhan Bakteri. *Balai Besar Penelitian*
- Ruzana. 2011. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Antibakteri dari Feses Bayi. [Tesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Salminen S, Wright AV. 1998. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects 2 nded*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Septiani, A.H., Kusrahayu, Legowo, A.M. 2013. Pengaruh Penambahan Susu Skim pada Proses Pembuatan Frozen Yoghurt yang Berbahan Dasar Whey terhadap Total Asam, pH, dan Total Bakteri Asam Laktat. *Animal Agriculture Journal*. 2(1): 225 – 231
- Shah, N.P.1999. Probiotic Bacteria : Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *Journal Dairy Sci*. 83 : 894-907.
- Suarsana, N.I., Suarini, A.G., Utama, H.I. 2004. Pengaruh Yoghurt Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Profil Lipoprotein Serum Kelinci. *Journal Veterine.*, 5: 12-14.
- Surajudin, Kusuma, F.R., Purnomo, Dwi. 2006. *Yoghurt, Susu Fermentasi yang Menyehatkan*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia. 2009. SNI 2981-2009. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Vinderola, C.G., Mocchiutti, P., Reinheimer, J.Á. (2002). Interactions among lactic acid starterand probiotic bacteria used for fermented dairy products. *Journal Dairy Sci*. 85: 721-729.
- Wolf, C.E. dan Gibbons, W.R. 1996. Improved method for the determination of nisin. *Journal Appl. Bacteriology* 80(4): 453-457.