

Aktivitas Antimikroba Khamir Asal Dadih (susu kerbau fermentasi) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen

(Antimicrobial activity of yeast dadih (buffalo milk fermentation) origin on pathogenic bacteria)

Yurliasni¹

¹Laboratorium Teknologi Hasil Ternak, Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh.

ABSTRACT Research was carried out to study the effect of antimicrobial activity of yeast found in dadih. Yeasts chosen were isolated from dadih (traditionally buffalo milk fermentation). The objective is to know the ability of yeast to inhibit the growth of pathogenic bacteria in milk. They were *Candida curiosa*, *Brettanomyces custersii*, and *Kluyveromyces lactis*. *Kluy. lactis* has strong

antimicrobial on *Bacillus subtilis* with zone of inhibition \pm 5mm, *C. curiosa* on *E.coli* (5mm) and *C. curiosa* and *Brett. custersii* also have strong antimicrobial on *S. aureus* consecutively 5,75 and 7 mm. As a conclusion the result showed that all of three yeasts selected have capability to stop the growth of pathogenic bacteria of buffalo milk origin in five days.

Key words: dadih, antimicrobial, and zone of inhibition

2010 Agripet : Vol (10) No. 1: 19-24

PENDAHULUAN

Susu merupakan sumber makanan yang sangat baik dan sempurna bagi mikroorganisme karena mengandung zat-zat gizi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Nilai pH 6,5 dari susu segar merupakan kondisi yang hampir ideal untuk pertumbuhan kebanyakan mikroorganisme. Fermentasi susu merupakan salah satu cara pengawetan dengan menggunakan kemampuan mikroorganisme secara optimal sebagai upaya meningkatkan nilai manfaat susu dan penganekaragaman pangan yang telah dilakukan sejak lama. Banyak produk susu fermentasi yang sudah dikenal dan bahan dasarnya adalah susu sapi seperti yoghurt dan yakult, namun demikian terdapat juga produk olahan susu fermentasi tradisional, asal Sumatera Barat yang bahan dasarnya adalah susu kerbau atau biasa dikenal dengan dadih.

Dadih adalah produk olahan susu kerbau yang difermentasi secara tradisional di dalam tabung bambu selama 48 jam (Sugita, 1995). Penggunaan susu kerbau di Sumatera Barat bertujuan untuk memanfaatkan susu kerbau yang berlimpah, akan tetapi susu

kerbau kurang disukai bila dikonsumsi dalam keadaan segar karena adanya bau yang tidak disenangi. Untuk mengatasinya dilakukan fermentasi sehingga citarasanya dapat diterima secara organoleptik oleh masyarakat.

Pembuatan dadih secara tradisional melibatkan beberapa macam mikroorganisme diantaranya bakteri asam laktat (BAL), kapang dan khamir. Keberadaan khamir di dalam produk fermentasi tradisional perlu dipertimbangkan, karena dapat memberikan kontribusi positif selama proses fermentasi dan terhadap produk akhir seperti menyediakan faktor pertumbuhan bagi bakteri asam laktat dan meningkatkan citarasa. Selain itu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh khamir seperti asetat, suksinat, propionat, fumarat dan piruvat mempunyai pengaruh yang baik terhadap citarasa serta mempunyai kemampuan sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang terdapat didalam susu.

Aktivitas antimikroba khamir asal dadih ini diharapkan dapat menjaga keamanan dadih selama beberapa hari, hal ini dirasa penting karena dalam pembuatan dadih, susu yang digunakan tidak dipasturisasi terlebih dahulu. Hal ini didukung oleh laporan penelitian Sisriyenny (2004) yang menyatakan

Corresponding author: yurliasni@yahoo.com

bahwa kualitas dadih masih baik setelah disimpan selama lebih dari 5 hari pada 25°C. Oleh karena itu dianggap perlu untuk mempelajari kemampuan metabolit yang dihasilkan khamir dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Menurut Ostling dan Lindgren, (1990) bahwa pengaruh penghambatan terhadap bakteri patogen sebagian besar disebabkan oleh akumulasi asam organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Asam akan menyebabkan penurunan pH hingga dibawah kisaran pH pertumbuhan bakteri dimana asam-asam ini dalam bentuk tidak terdisosiasi dan dapat berdifusi secara cepat kedalam sel patogen sehingga menyebabkan sel menjadi rusak. Oleh karena itu adanya aktivitas antimikroba asal khamir ini dapat bermanfaat dalam proses fermentasi secara alami. Selain itu juga bertujuan untuk membuat produk susu fermentasi secara tradisional dapat lebih aman untuk dikonsumsi.

MATERI DAN METODA

Penelitian ini dilaksanakan selama enam bulan di laboratorium mikrobiologi Sekolah Ilmu Teknologi Hayati ITB, Bandung.

Susu kerbau yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan dadih berasal dari Kota Jantho, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi Aceh. Khamir yang digunakan merupakan hasil isolasi dari dadih susu kerbau yang terdiri dari *Kuyveromices lactis* dan *Brettanomyces custersii* sedangkan bakteri uji yang digunakan adalah *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB), PDB (Potatoes Dextrose Broth), PDA (Potatoes dextrose Agar)

Alat yang digunakan adalah pH meter, tabung erlenmeyer, mikro pipet, batang pengaduk, batang siku, lampu bunsen, tabung reaksi, cawan petri, pipet tetes, pinset, kertas cakram, ose, dan inkubator

Pengujian aktivitas antimikroba biakan khamir terhadap bakteri patogen (Daeschel, 1993).

Khamir *Kluyveromices lactis* dan *Brettanomyces custersii* masing-masing

ditanam kedalam 10 ml kaldu kentang PDB (*Potatoes Dextrose Broth*), dengan 2 ulangan, selanjutnya diinkubasi pada suhu 25 °C selama 48 jam.

Bakteri uji (*Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) disiapkan dengan cara menggoreskan biakan pada nutrien agar (*strik plate*), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya masing-masing bakteri uji disebarkan ke dalam 10 ml kaldu nutrien laktosa dan diinkubasi hingga mencapai OD 0,8 pada suhu 37 °C. Satu mililiter (1 ml) masing-masing kultur uji (bakteri patogen) ditanamkan ke dalam nutrien agar steril yang telah membeku dengan metode sebar (*spread plate*) dan dengan 2 kali ulangan. Selanjutnya secara steril pada setiap cawan petri, diletakkan 2-4 buah kertas cakram (disc) steril sebagai lokasi pengujian antimikroba. Pada setiap kertas cakram ditetaskan masing-masing sebanyak 100 µl biakan khamir dalam PDB dan dalam keadaan kaldu bebas sel atau kaldu yang mengandung sel tidak aktif, kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 25 °C selama 5 hari (120 jam).

Pengamatan dilakukan setiap 24jam dengan mengukur zona hambat berdasarkan areal bening yang terbentuk disekitar kertas cakram, dan pengamatan dilakukan sebanyak 5 kali yaitu pada masa inkubasi isolat khamir 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Jacobsen (1999) menetapkan luas zona hambat minimal 1mm, positif 1 (+) bila daerah bening antara 2-5 mm dan aktivitas penghambatan kuat (++) bila lebih dari 5mm. Prosedur pelaksanaan pengujian mengacu pada (Daeschel, 1993)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil khamir hasil isolasi dan identifikasi asal dadih yang digunakan dalam percobaan ini adalah sebagai berikut:

Candida curiosa

Khamir ini termasuk devisi *Deuteromycotina*, famili *Cryptococcaceae* dan genus *Candida*. *Candida curiosa* bersifat proteolitik pada umumnya dan bersifat kaseinolitik terhadap susu. Hal ini menunjukkan bahwa selama pertumbuhannya khamir ini akan memetabolisme protein susu sebagai

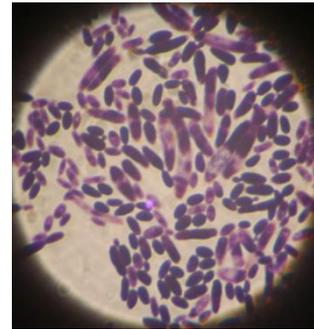
salah satu sumber carbon dan energi (Roostita dan Fleet, 1996). Di samping itu didukung oleh kemampuan menggunakan nitrat dan nitrit, memfermentasi glukosa dan sukrosa serta pati menyebabkan perubahan pada berbagai media yang ditumbuhinya (Barnet, 2000). Selanjutnya *C. curiosa* juga dijelaskan menghasilkan enzim lipase ekstraseluler sehingga dapat menghidrolisis lemak susu sebagai sumber karbon dan energi pertumbuhannya (Fizgerald dan Deeth, 1993).



Gambar 1. Sel khamir *Candida curiosa* (pembesaran 4000 x)

Brettanomyces custersii

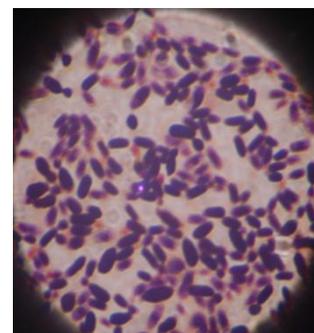
Khamir ini termasuk devisi *Saccharomycotina*, famili *Saccharomycetaceae* dan genus *Brettanomyces*. *Brett. custersii* mampu memfermentasi glukosa, galaktosa, sukrosa, maltosa dan selubiosa, sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Di samping itu khamir ini mampu bertahan dalam etanol sehingga *Brett. custersii* sering terdapat pada produk-produk fermentasi alkohol dan menghasilkan senyawa yang dapat merubah rasa dan aroma produk fermentasi (Thomas 1993). Kemampuan *Brett. custersii* dalam menggunakan nitrat dan nitrit menunjukkan bahwa selama pertumbuhannya khamir ini akan menggunakan protein susu sebagai salah satu sumber carbon dan energi untuk pertumbuhannya (Roostita dan Fleet, 1996).



Gambar 2. Sel khamir *Brettanomyces custersii* (pembesaran 4000 x)

Kluyveromyces lactis

Khamir ini termasuk devisi *Ascomycotina*, famili *Saccharomycetaceae* dan genus *Kluyveromyces*. Di dalam susu *Kluy. lactis* mampu memfermentasi laktosa, glukosa dan galaktosa. Kemampuan menggunakan nitrat dan nitrit negatif sehingga protein bukan merupakan sumber carbon dan energi pertumbuhannya akan tetapi khamir ini dapat bertahan dalam media yang mengandung etanol dan gliserol (Barnet *et al.*, 2000). *Kluy. lactis* dijelaskan mampu menghasilkan enzim beta-galaktosidase yang dapat digunakan untuk menurunkan kandungan laktosa susu (Nahvi and Moheini, 2004). Selanjutnya kamir ini dilaporkan menghasilkan enzim lipase ekstraseluler dan intraseluler sehingga mampu menghidrolisis lemak serta memetabolisme dan mendegradasi lemak khususnya pada susu (Woo dan Lindsay, 1984; Fitzgerald dan Deeth, 1993).

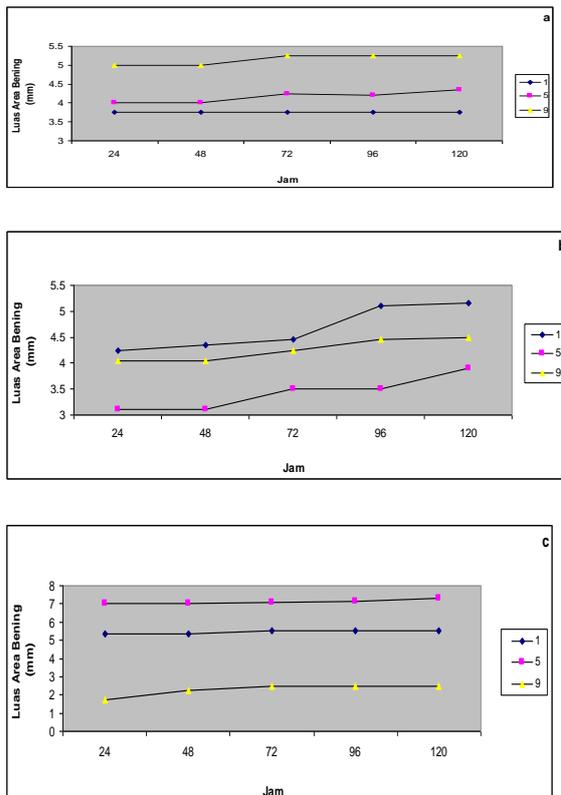


Gambar 3. Sel khamir *Kluyveromyces lactis* (pembesaran 4000x)

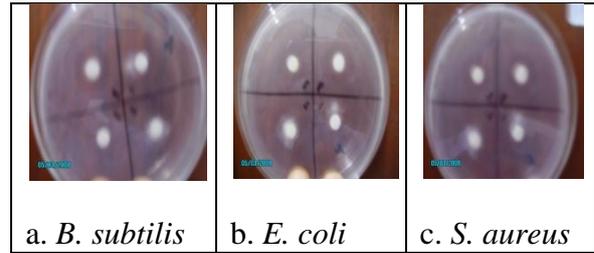
Aktivitas Antimikroba Khamir

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan pada ke tiga isolat khamir yang di temukan terhadap beberapa bakteri patogen seperti *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. aureus*. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antimikroba, menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri pathogen. Hal ini juga didukung oleh kelimpahan ketiga khamir pada tahap isolasi bertahap yang lebih dominan. Hasil pengujian aktivitas antimikroba isolat khamir dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada Gambar 3a terlihat bahwa selama 120 jam (5 hari) masa inkubasi *C. curiosa* memberikan daya hambat sedang terhadap *B. subtilis* (3,75mm), demikian juga halnya dengan *Brett. custersii* (4mm), akan tetapi khamir *Kluy. lactis* menunjukkan daya hambat yang kuat terhadap *B. subtilis* (5mm). Lamanya masa inkubasi berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sisriyenny (2004) bahwa kualitas dadih masih baik setelah disimpan selama lebih dari 5 hari pada 25°C



Gambar 4. Grafik luas zona bening penghambatan isolat khamir *C. curiosa* (1), *Brett.custersii* (5), dan *Kluy. lactis* (9) terhadap bakteri a) *B. subtilis*, b) *E. coli* dan c) *S. aureus*. Kondisi lingkungan pada suhu 25°C



Gambar 5. Zona bening penghambatan Khamir pilihan terhadap bakteri uji a) *B. subtilis*; b) *E. coli* dan c) *S. aureus*.

Selanjutnya Gambar 3b menunjukkan bahwa *C. curiosa* mempunyai aktivitas penghambatan sedang terhadap *E. coli* (4 mm). Aktivitas penghambatan ini secara perlahan berubah menjadi kuat dengan semakin lamanya waktu inkubasi yaitu 5 mm. Demikian juga halnya dengan aktivitas penghambatan *Brett. custersii* dari 3 mm menjadi 4 mm, namun demikian aktivitas penghambatan *Kluy. lactis* terhadap *E.coli* relatif sama selama masa inkubasi yaitu sedang (4,5 mm). Gambar 8c memperlihatkan khamir *C. curiosa* dan *Brett. custersii* mempunyai aktivitas penghambatan yang kuat terhadap *S. aureus* masing-masing 5,75 mm dan 7mm, sebaliknya *Kluy. Lactis* memberikan aktivitas penghambatan yang lemah dengan luas zona hambat 1,75- 5,25mm. Hasil pengujian aktivitas penghambatan yang dilakukan pada *C. curiosa*, *Brett. custersii* dan *Kluy. lactis* terhadap bakteri patogen secara umum dapat dikatakan semua spesies yang diuji mempunyai aktivitas antimikroba lemah sampai kuat selama masa inkubasi

Kekuatan aktivitas penghambatan yang dimiliki khamir sangat bervariasi, hal ini disebabkan karena spesies khamir yang diuji berbeda, sehingga kekuatan aktivitas penghambatan dari spesies khamir yang berbeda akan menghasilkan penghambatan dan aktivitas komponen metabolit yang berbeda selama proses fermentasi (Branen dan Davidson, 1993). Selanjutnya dijelaskan bahwa mekanisme penghambatan antimikroba dapat melalui beberapa faktor, antara lain mengganggu komponen dinding sel, bereaksi dengan dinding sel sehingga mengakibatkan kehilangan komponen penyusun sel, menginaktifkan enzim esensial yang berakibat pada terhambatnya sintesa protein dan

kerusakan fungsi material genetik sel (De Vuyst dan Vandamme 1994)

Ostling dan Lindgren, (1990) menjelaskan bahwa pengaruh penghambatan terhadap bakteri patogen sebagian besar disebabkan oleh akumulasi asam organik yang dihasilkan. Asam akan menyebabkan penurunan pH hingga dibawah kisaran pH pertumbuhan bakteri dimana asam-asam ini dalam bentuk tidak terdisosiasi dan dapat berdifusi secara cepat kedalam sel mikroba sehingga menyebabkan sel menjadi rusak. Selanjutnya asam tidak terdisosiasi akan terurai menjadi anion dan proton, dimana proton (H^+) akan masuk kedalam sel, akibatnya fungsi metabolisme akan terganggu, seperti terjadinya pengasaman sitoplasma, penghambatan transfer substrat, sintesis makromolekul, dan secara keseluruhan pertumbuhan bakteri akan terhambat.

C. curiosa, *Brett. custersii* dan *Kluy.* *lactis* mempunyai aktivitas yang kuat terhadap bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif Hasil penelitian yang dilakukan Golubev dan Boekhout (1992) menemukan bahwa aktivitas antimikroba akan terlihat ketika adanya interaksi antara khamir dan bakteri. Interaksi ini tidak hanya menunjukkan ciri positif atau negatif dari suatu proses fermentasi, tetapi melibatkan aktivitas antagonis khamir melawan mikroorganisme lain dengan memproduksi *micocin* yaitu sekresi senyawa anti bakterial. Selain itu Fatichenti *et al.*, (1983) dalam penelitiannya pada aktivitas antagonis khamir spesies *Kluyveromyces* dan *Kloeckera* melawan bakteri menemukan bahwa spesies khamir ini memproduksi senyawa antimikroba ekstraseluler dan intraseluler yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Adanya aktivitas antimikroba didukung oleh hasil penelitian Suzuki *et al.*, (2001) dan Marquina *et al.*, (2002) yang menemukan aktivitas antagonis khamir yaitu diproduksinya toksin pembunuh (*killer toxin*), karena toksin ini merupakan protein ekstraseluler atau glikoprotein yang dapat merusak fungsi dan membran sel mikroba.

KESIMPULAN

Khamir *Kluy. lactis* mempunyai aktivitas antimikroba kuat terhadap *B. subtilis* dengan luas zona hambat 5mm, *C. curiosa* terhadap *E. coli* dengan luas zona hambat 5mm, dan *C. curiosa* serta *Brett. custersii* terhadap *S. aureus* dengan luas zona hambat masing-masing 5,75mm dan 7mm dan menunjukkan ke tiga khamir mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada dadiah .

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett, J.A., Pankhurst, R.J., 2000. The Yeast. North- Holland. Publishing Company
- Branen, A.L., Davidson, P.M., 1993. Antimicrobial in Food. New York. Marcel Dekker
- De Vuyst and Vandamme, 1994. Bacteriocin of Lactic Acid Bacteria, Microbiology, Genetic and Application. London: Blacki Academic and Proffessional
- Daeschel, M.A., 1993. Procedures to detect antimicrobial activities of microorganisms In: Food Biopreservatives of Microbial Origin p. 58-77. CRC Press
- Fatichenti, F., Bergere J.L., Deiana, P., Farris, G. A., 1983. Antagonistic Activity of *Debaryomyces hansenii* toward *Clostridium butyricum*. J. Dairy Res. 50: 449-457
- Fitz-Gerald, C.H., Deeth, H.C. and Snow, A.J., 1993. A gas chromatographic methode for the quantitative determination of free fatty acid in milk product. New Zealand J. Dairy Sci. and Technology
- Jacobsen, C.N., 1999. Screening of probiotic activities of fourty-seven strain of *Lactobacillus* spp. By in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in human. J Appl and Environ Microbiol 65 (11):4949-4956
- Marquina, D., Santos, A., Peinado, J.M., 2002. Biology of killer yeast. Int Microbiol 5:65-71

- Nahvi, I., Moeini, H., 2004. Isolation and Identification of Yeast Strains with High Beta-galactosidase Activity from Dairy Products. *Biotechnology*, 3(1):34-50
- Osling, C. E., Lindgren S.E., 1990. Inhibition of enterobacteria and lysteria growth by lactic, acetic and formic acid. *J Appl Bacteriol* 73: 18-24
- Sugita, M., 1995. Dadih olahan susu kerbau tradisional Minang, manfaat, kendala, dan prospek dalam era industrialisasi Sumatra Barat . Didalam Penerapan teknologi hasil ternak untuk peningkatan gizi masyarakat. Universitas Andalas. Padang
- Suzuki, C., Ando, Y., Machida, S., 2001. Interaction of SMKT, a killer toxin produced by *Phicia farinosa* with the yeast cell membranas. *Yeast* 18:1471-1478
- Roostita, L.B. and Fleet G.H., 1996. The Occurance and Growth of Yeast in Camembert and Blueveined Cheese. *Int J Food Microbiol* 28: 393-404
- Thomas, D.S., 1993. Yeast as spoilage organisms in beverage. In. Rose, A. H., Harison J.S (eds). *The Yeast*, vol 5.
- Thomas, D.S., 1993. Yeast as spoilage organisms in beverage. In. Rose, A. H., Harison J.S (eds). *The Yeast*, vol 5.
- Woo, A.H. and Lindsay, R.C., 1984. Pasteurization of lipase activity in cold stored butter. *J. Dairy Science* 67 (6) 1194-1198
- Sisriyenny, D. dan Zurriyati, Y., 2004. Kajian Kualitas Dadih Susu Kerbau Di dalam Tabung Bambu dan Tabung Plastik. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. Vol 7, No (2): 171-179.