

KUALITAS MIKROBIOLOGIS DANGKE YANG DIBUAT PADA BERBAGAI LEVEL EKSTRAK GETAH PEPAYA DAN SUHU PEMANASAN

Muhammad Irfan

Email : *irfan.ppsunhas@gmail.com*

**Dosen Prodi Agroteknologi Pertanian
STIP YAPI BONE**

Abstrak

*Dangke adalah produk semacam keju tanpa pemeraman, dan tidak dikoagulasi dengan rennet melainkan dengan papain (getah buah pepaya). Penelitian ini bertujuan untuk melihat kualitas mikrobiologis dangke yang dibuat pada berbagai level geah pepaya kering dan suhu pemanasan. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola factorial 3 x 8 dengan 3 kali ulangan. faktor A adalah suhu pemanasan (65 °C, 70 °C, 75 °C, 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C, 100 °C) dan faktor B adalah konsentrasi getah pepaya kering (0,3%, 0,4% dan 0,5%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dangke yang dibuat pada berbagai level getah pepaya kering dan suhu pemanasan memiliki kandugan bakteri asam laktat dengan karakterisasi pengujian morfologi dengan hasil bentuk bulat, warna putih dan putih kekuningan, permukaan cembung, pewrnaan gram positif (bentuk batang dan bulat dengan warna ungu). Pada identifikasi bakteri *Listeria monocytogenes* diperoleh morfologi dengan bentuk bulat, warna (putih, kuning, coklat dan hitam), pewarnaan gram positif (batang, ungu), pada pengujian biokimia tidak ada sampel yang positif *Listeria monocytogenes* dari dangke yang dibuat dengan berbagai level getah pepaya kering dan suhu pemanasan. Disimpulkan bahwa dangke mengandung bakteri asam laktat dan tidak mengandung *Listeria monocytogenes* pada berbagai perlakuan.*

Kata kunci : *dangke, bakteri asam laktat (BAL), *Listeria monocytogenes*.*

Abstrak

*Dangke is a kind of cheese products without curing, and not coagulated with rennet, but with papain (papaya latex). This study aims to look at the microbiological quality dangke made at various levels geah dried papaya and heating temperature. This research was carried out experimentally by using completely randomized design (CRD) factorial pattern 3 x 8 with 3 repetitions. A factor is the heating temperature (65 °C, 70 °C, 75 °C, 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C, 100 °C) and factor B is the concentration of dried papaya latex(0.3% , 0.4% and 0.5%). The results of this study indicate that dangke made at various levels of dried papaya latex and heating temperature has kandugan characterization of lactic acid bacteria with morphology testing with the results of spherical shape, white and yellowish white color, surface convex, pewrnaan gram-positive (rods and round shapes in purple). On the identification of *Listeria monocytogenes* bacteria obtained morphology with rounded shapes, colors (white, yellow, brown and black), gram staining positive (stems, purple), the biochemical tests are not No positive samples of *Listeria monocytogenes* dangke made with various levels of dried papaya latex and heating temperature. It was concluded that dangke contains lactic acid bacteria and does not contain *Listeria monocytogenes* on a variety of treatments.*

Keywords: *dangke, lactic acid bacteria (LAB), *Listeria monocytogenes*.*

PENDAHULUAN

Dangke adalah produk semacam keju tanpa pemeraman, dan tidak dikoagulasi dengan rennet melainkan dengan papain (getah buah pepaya). Dangke yang diproduksi di Enrekang, Sulawesi Selatan umumnya dikonsumsi sebagai lauk pauk. Dangke asli berwarna putih dan bersifat elastis sedangkan dangke campuran (palsu) warnanya agak kuning kusam dan tidak elastis (Marzoeki, 1978). Dangke merupakan bahan pangan dengan nilai gizi yang tinggi.

Dangke merupakan makanan khas tradisional masyarakat di Kabupaten Enrekang, sehingga karakteristik produk perlu dipertahankan. Karakteristik produk yang dimaksud bukan hanya pada komposisi produk dan daya simpan, produk, tetapi juga pada mikrostruktur produk, serta kualitas mikrobiologi produk harus diperhatikan. Perubahan-perubahan pada produk seperti pada kandungan mikrobiologis serta mikrostruktur akan menyebabkan kualitas dangke selalu berubah sehingga produk sulit untuk dijadikan dasar untuk pembuatan skala industri. Kondisi produk masyarakat yang masih bervariasi diakibatkan karena tidak berkembangnya inovasi teknologi pada proses pembuatan dangke, sehingga

proses produksi masih dilakukan secara tradisional. Hal ini berakibat pada daya simpan dangke yang relatif pendek karena kandungan mikrobiologis serta mikrostruktur dangke selalu berubah.

Dangke merupakan salah satu produk olahan susu yang dibuat dengan melalui proses koagulasi dengan menggunakan getah pepaya dan suhu pemanasan. Pada penelitian ini dangke dibuat dengan menggunakan berbagai level ekstrak getah pepaya dan suhu pemanasan. Parameter yang ditekankan dalam penelitian ini adalah dengan melihat kualitas mikrobiologis (mendeteksi bakteri asam laktat, mendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* dan total plate count). Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kualitas mikrobiologis dangke yang dibuat pada berbagai level ekstrak geah pepaya dan suhu pemanasan.

MATERI DAN METODE

PENELITIAN

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari 2018, bertempat di Laboratorium Ilmu Bioteknologi Pengolahan Susu dan Laboratorium Mikrobiologi Hewan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu segar, ekstrak getah pepaya, air, alkohol 70 %, tissue, aluminium foil, aquades, MRS agar, Listeria Selektif Agar (LSA), Listeria Enrichment Agar (LEB), spiritus, Lugol, kristal violet, savranin dan minyak emersi.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *coolbox*, pisau, talenan, plastik sampel, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, mikroskop, bunsen, rak tabung, inkubator, magnetik stirrer, timbangan, objek glass, pipet tetes, spatula, ose, autoclaf

Metode

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola factorial 3 x 8 dengan 3 kali ulangan. faktor A adalah suhu pemanasan dan faktor B adalah konsentrasi getah pepaya. Tingkat konsentrasi getah pepaya adalah 0,3%, 0,4% dan 0,5% sedangkan suhu pemanasan adalah 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C, 90°C, 95°C, 100°C.

Prosedur

Pembuatan Ekstrak Getah Pepaya. Pepaya yang akan disadap harus tetap tergantung pada batangnya. Waktu penyadapan getah pepaya dilakukan

pada pukul 06:00 – 07:00 wita dan pada pukul 17:30-18:30 wita. Penyadapan dilakukan dengan cara menorehkan alat sadap (pisau) pada kulit buah pepaya dari pangkal menuju ujung buah. Kedalaman torehannya antara 1-2 mm. Banyaknya torehan tiap buah yaitu lima torehan tiap buah dengan jarak torehan 1-2 cm. Setelah getah pepaya terkumpul maka segera dilakukan pengeringan dengan cara memasukkan ke dalam oven dengan suhu 55°C selama 20-24 jam

Pembuatan dangke. Susu segar yang telah disiapkan (1 liter/perlakuan) dipanaskan sesuai perlakuan (65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C, 90°C, 95°C, 100°C) masing - masing 1 menit kemudian ditambahkan ekstrak getah pepaya sesuai perlakuan (0,3%, 0,4%, 0,5%), setelah terbentuk gumpalan dicetak dan disaring dengan menggunakan tempurung kelapa.

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati adalah karakteristik bakteri asam laktat dan karakteristik bakteri *Listeria monocytogenes*.

Analisis data

Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan analisis ragam. Perlakuan yang berpengaruh nyata akan di uji lanjut

dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (Gasperz, 1994).

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada pengamatan morfologi yang dihasilkan dari dangke yang dibuat dengan berbagai level ekstrak getah pepaya dan suhu pemanasan menunjukkan bakteri asam laktat dangke semuanya berbentuk bulat dengan warna putih mengkilat dan putih kekuningan dan permukaan cembung (Lampiran 1), dengan pewarnaan gram (lampiran 2) ada 3 sampel yang negatif (bentuk bulat, warna merah) yaitu suhu 70 °C dengan konsentrasi getah pepaya kering 0,5% dan 95 °C dengan konsentrasi getah pepaya kering 0,3% dan 0,4%.

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *Listeria monocytogenes* pada dangke yang dibuat dengan berbagai level ekstrak getah pepaya dan suhu pemanasan menunjukkan hasil dengan bentuk bulat, warna beragam (kuning, putih, coklat, dan hitam), dengan permukaan cembung. Pada pengujian pewarnaan gram hanya ada 3 sampel yang berbentuk batang sehingga hanya tiga yang diuji lanjut kepengujian biokimiawi yaitu C1k1 (gram positif, uji hemolisa ada zona hemolisa, uji KOH

negatif, uji katalase positif, uji motilitas tidak motil, uji mannitol negatif, uji ramnosa negatif, uji xylose negatif), C1k2 (gram positif, uji hemolisa ada zona hemolisa, uji KOH negatif, uji katalase positif, uji motilitas motil, uji mannitol positif, uji ramnosa positif, uji xylose positif), D2 (gram positif, uji hemolisa ada zona hemolisa, uji KOH negatif, uji katalase positif, uji motilitas tidak motil, uji mannitol negatif, uji ramnosa negatif, uji xylose negatif).

PEMBAHASAN PENELITIAN

Penelitian menunjukkan bahwa pada dangke terdapat bakteri bakteri asam laktat (BAL) yang dapat diisolasi dengan Menurut Holdeman dan Gato (1977), isolat bakteri asam laktat yang telah diinkubasi pada suhu 30-37°C tampak koloni bakteri yang tumbuh dalam media selektif. Koloni bakteri asam laktat *Lactobacillus* berciri-ciri putih mengkilat, ukuran koloni 0,5-2 mm. Bentuk koloni bulat rata dan tidak berserat. Ernawati (2010), Bakteri ini terisolasi setelah proses pengenceran 10^3 yang kemudian ditumbuhkan pada media MRS Agar. Setelah proses inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam tampak koloni bakteri yang berwarna putih susu dan mengkilat. Sari (2013), Hasil identifikasi morfologi sepuluh isolat ditunjukkan secara

makroskopis, sepuluh isolat yang didapatkan memiliki bentuk yang bulat, ukurannya bervariasi, berwarna putih dan putih kekuningan. Pada pewarnaan gram hasilnya positif (bentuk bulat dan batang, warna ungu. Hal ini sesuai dengan pendapat Syahrurahman (1994), yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida.

Penelitian ini menunjukkan ada 3 sampel yang diduga mengandung bakteri patogen *Listeria monocytogenes* setelah dilakukan berbagai pengujian (pengamatan morfologi dan pengujian biokimiawi. Abdelgadiret *al.*, (2009) bakteri yang tumbuh pada media agar selektif *Listeria* spp. berupa bentuk koloni yang kecil, bulat, halus dan adanya zona hitam di sekeliling koloni bakteri karena terdapat degradasi aeskulin, dengan pewarnaan Gram menunjukkan warna ungu (Gram

positif), berbentuk batang. Karakteristik penting lain *Listeria* isolasi media masuknya esculin. Semua *Listeria* spp. menghidrolisis esculin dan inklusidari esculin dan besi besi di pengayaan atau plating hasil media dalam pembentukan warna hitam intens (Fraser dan Sperber, 1988). Hal ini disebabkan komplemen yang xation dari besi besi dengan 6,7-dihidroxicoumarin, produk esculin pembelahan oleh β -D-glukosidase, menghasilkan endapan hitam. Namun, pertumbuhan *L monocytogenes* mungkin terhalang oleh kehadiran mikroorganisme lainnya (Hitchins dan Duvall, 2000) dan media selektif mungkin tidak benar-benar selektif (Palumbo, 1991).

Hasil uji pewarnaan gram yang dilakukan pada dangke yang dibuat dengan berbagai level ekstrak getah pepaya dan suhu pemanasan dengan jumlah sampel/isolat sebanyak 24 yaitu hanya ada 3 isolat/sampel yang berbentuk batang/basil dengan warna ungu (gram positif). Ciri-ciri bakteri *Listeria monocytogenes* yaitu ditandai dengan hasil pewarnaan gram dengan bentuk batang/basil dengan warna motil bila ditumbuhkan pada suhu $20-25^{\circ}\text{C}$ dengan adanya pertumbuhan flagella peritrikus ungu. *Listeria monocytogenes* merupakan bakteri batang Gram-positif, berukuran diameter $0.5\ \mu\text{m}$ dan panjang

1–2 μm , tidak membentuk spora, serta bersifat psikrotrofik yang tumbuh pada rentang suhu -4 sampai 50 °C. Bakteri ini bersifat (Farber dan Peterkin 1991, Gyles *et al.* 2010, Liu 2006).

Hasil uji hemolisa menunjukkan isolat C1k1 dan C1k2 menghemolisis agar darah ditandai dengan terbentuknya zona hemolisa pada agar darah, dan isolat D2 menunjukkan tidak terjadinya hemolisa. Wehrdan Frank (2004), aktivitas hemolitik *L. monocytogenes* dapat diketahuikan dengan uji CAMP. Uji ini dilakukan dengan cara menumbuhkan koloni yang diduga *L. monocytogenes* pada media agar darah domba (5-7%), Uji CAMP menunjukkan adanya zona hemolisis pada goresan yang diduga *L. monocytogenes*. Hitchins (2003), Spesies patogen dan non-patogenik dapat dibedakan oleh hemolisin atau kegiatan PI-PLC. Hemolisis adalah karakter kunci untuk membedakan kedua spesies yang paling sering di isolasi, yaitu *L. monocytogenes* (Hemolitik) dan *L. innocua* (non-hemolitik). Confirmation dari spesies *Listeria* patogen juga dapat didasarkan aktivitas PI-PLC mereka terdeteksi oleh kebanyakan kromogenik media. Tersedia secara komersial β -lisis cakram yang direkomendasikan Hitchins (2003), sebagai sederhana tes untuk membedakan antara kegiatan hemolitik

dari Spesies *Listeria* dengan CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson).

Hasil uji KOH menunjukkan isolat C1k1 dan C1k2 negatif dan isolat D2 positif. Dinyatakan negative jika pada uji KOH 3% tidak terbentuk lender atau benang kental dan dinyatakan positif jika terbentuk lender atau benang kental. Lendir tersebut merupakan komponen kromosom sel bakteri Gram negatif yang membrane selnya telah dirusak oleh KOH 3%. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya lender saat direaksikan dengan larutan KOH 3%. Tidak terbentuknya lendir pada bakteri gram positif karena dinding sel bakteri gram positif lebih resisten terhadap KOH sehingga dinding sel tidak pecah. Kuatnya dinding sel ini yang membuat DNA tetap berada di dalam sel. Menurut Shivas dan Beasley (2005), dinding sel bakteri gram negative lebih sensitif dan tidak memiliki ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH. Sehingga apabila sel bakteri gram negative direaksikan dengan larutan KOH akan menyebabkan dinding sel bakteri pecah dan terjadi lisis dan DNA dibebaskan. DNA bersifat sangat kental di dalam air, maka terbentuklah benang lendir.

Hasil uji katalase pada isolat C1k1 dan C1k2 positif dan pada isolat

D2 negatif. Pada uji katalase diamati terbentuknya gelembung oksigen pada isolate setelah penetesan larutan Hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%. Apabila terbentuk gelembung oksigen maka isolate tersebut mampu menghasilkan enzim katalase. Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan membentuk gelembung-gelembung yang berarti ada pembentukan gas Oksigen (O₂) sebagai hasil pemecahan H₂O₂ oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tersebut. Bakteri *Listeria monocytogenes* termasuk bakteri katalase positif (Stamer, 1979).

Hasil uji motilitas menunjukkan isolat C1k1 dan D2 negatif, isolat C1k2 positif. Pergerakan bakteri dapat diamati dengan adanya pertumbuhan di sekitar media (motil), sedangkan bakteri tidak motil ditandai dengan adanya pertumbuhan hanya di bagian tusukan ose jarum saat inokulasi. Gyleset *al* (2010), Bakteri *Listeria monocytogenes* bersifat motil bila ditumbuhkan pada suhu 20–25 °C dengan adanya pertumbuhan flagella peritrikus. Ryser dan Marth (2004), *Listeria* (yaitu Gram positif dan tidak membentuk spora batang, katalase-positif dan oxidase-negatif, dan motil pada 28°C dan non-motil di 37°C)

Hasil uji positif bila terjadi fermentasi pada media gula-gula di

atas ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning dan hasil uji negatif bila media gula-gula tetap berwarna ungu. Jika criteria ini terpenuhi, budaya ini kemudian diuji untuk manitol negative degra-dation dan kemampuan untuk menginduksi hemolisis darah agar. Kultur positif harus diuji lebih lanjut untuk negative exilosaative dan pemanfaatan rhamnose positif sebelum menyimpulkan bahwa sampel adalah *L.monocytogenes* lebih dari satu spesies *Listeria* lainnya (Buchanan, 1990; Lovett, 1990). Tes-tes lain termasuk escu-positiflin dan penggunaan tellurite, status oksidase-negatif, dan kemampuan untuk menghasilkan asam dari glukosa. Bahkan setelah semuanya ini, serotipe yang masih harus ditentukan (Buchanan, 1990).

KESIMPULAN DAN SARAN

Pembuatan dangke dengan menggunakan berbagai level getah pepaya kering dan suhu pemanasan dengan melihat kondisi kualitas mikrobiologis dangke dinyatakan mengandung bakteri asam laktat yang dapat diisolasi dan dikarakterisasi, dan pada bakteri *Listeria monocytogenes* berdasarkan hasil pengamatan morfologi, uji Gram, dan uji biokimia dinyatakan tidak ada bakteri *Listeria*

monocytogenes.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel gadir K.K., Srivastava & Reddy P.G.(2009). *Detection of Listeria monocytogenes in ready-to-eat meat products*. Am. J. Anim. Vet. Sci. 4(4): 101 – 107.
- Buchanan R.L.(1990). *Kemajuan dalam metode budaya untuk deteksi dari Listeria monocytogenes*. Dalam: Miller, AJ, Smith, JL, Somkuti, GA (Eds.), *Bawaan makanan Listeriosis*. Elsevier Science Publishers, New York, hlm. 85-96
- Ernawati.(2010). *Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat Pada susu kambing segar* (skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.
- Farber J.M., & Peterkin P.I.(1991). *Listeria monocytogenes*, patogen makanan ditanggung. Microbiol Rev 55,476-511.
- Fraser J.A., & Sperber W.H., (1988). *Cepat deteksi Listeria spp. dalam makanan dan sampel lingkungan dengan esculin hidrolisis*. J Makanan Prot 51, 762-765.
- Gasparz V. (1994). *Metode Perancangan Percobaan*. CV. Armico, Bandung
- Gyles, C. L., J. F. Prescott, G. Songer & C. O. Thoen, 2010. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*, 4th edn, Ames, Wiley-Blackwell.
- Liu, D., 2006. *Identification, subtyping and virulence determination of Listeria monocytogenes, an important foodborne pathogen*. Journal of Medical Microbiology, 55, 645–659.
- Hitchins A.D., & Duvall R.E. (2000). *Kelayakan didefinisikan Metode mikroflora tantangan untuk mengevaluasi efektivitas bawaan makanan Listeria monocytogenes pengkayaan selektif*. Journal of Food perlindungan 63, 1064-1070.
- Hitchins A.D.(2003). *Deteksi dan penghitungan Listeria monocytogenes dalam makanan*. US Food and Drug Administration bakteriologis Analytical Manual. Bab 10 [on line]. Tersedia dalam <http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-10.html> [1 Februari 2006].
- Holdeman L.U., & Gato E.P. (1977). *Anaerob Laboratory Manual*. Virginia : Virginia Polytechnic Institute and State University
- Marzoeki A. (1978). *Penulisan Peningkatan Mutu Dangke*. Departemen Perindustrian. Balai Penulisan Kimia, Ujung Pandang.
- Palumbo S.A. (1991). *Peninjauan metode untuk deteksi psychrotrophic bawaan makanan-patogen Listeria monocytogenes dan Aeromonas hydrophila*. Journal of Keamanan Pangan 11, 105-122.
- Ryser E.T., & Marth E.H.(2004). *Listeria*, *listeriosis* dan

- makanansafety*. Third Edition. Marcel Dekker Inc., New York, Amerika Serikat.
- Sari YNM, Syukur S dan Jamsari. 2013. *Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Berpotensi sebagai Anti mikroba dari Fermentasi Markisa Kuning (Passiflora edulis var. flavicarpa)*. Jurnal Kimia Unand 2 (2) : 81-91
- Shivas, R dan D. Beasley. 2005. *Pengelolaan Koleksi Patogen Tanaman*. Diterjemahkan oleh Kramadibrata, K., N. Wulijarni dan M. Machmud. Queensland Department of Primary Industries and Fisheries, Australia. Hal. 57.
- Stamer, J.R. 1979. *The Lactic Acid Bacteria*. Microbes of Diversity. J. Food Technol. 1: 60 – 65.
- Syahrurachman, A., (1994), *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, Penerbit Bina Rupa Aksara, Jakarta.
- Wehr & Frank. 2004. *Standard methods for the examination of dairy products*, 17 th ed. Washington D.C: American Public Health Association.
- Yuni N.M.S., Sumaryati S., & Jamsari. (2013). *Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi DNA Bakteri asam laktat (bal) yang berpotensi sebagai Antimikroba dari fermentasi markisa kuning (Passiflora edulis var. flavicarpa)*. Universitas Andalas.