

AKTIVITAS ANTIKAPANG BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP PERTUMBUHAN KAPANG KONTAMINAN KEJU

[Antimycotic Activity of Lactic Acid Bacteria on the Growth of Cheese Contaminating Molds]

Fatim Illianingtyas¹⁾, B.S.L. Jenie²⁾, L. Nuraida²⁾ dan S. Setyahadi³⁾

¹⁾ Alumni Program Studi Ilmu Pangan, PPS-IPB Bogor

²⁾ Pengajar pada Program Studi Ilmu Pangan, PPS-IPB Bogor

³⁾ Pusat P2 Teknologi Bioindustri, Kedepulian Bidang Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Diterima 5 Maret 2006 / Disetujui 13 Juli 2006

ABSTRACT

Local cheese is frequently contaminated by toxigenic molds which is harmful for human health. Lactic acid bacteria have been proven to inhibit the growth of toxigenic mold in some food products. The research was aimed to study the activity of indigenous lactic acid bacteria to inhibit the growth of toxigenic molds in local cheese. The molds studied were isolated from local cheese production (Gouda type). The cheese contaminating molds were identified as *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp.

Nine species of indigenous lactic acid bacteria (LAB) were tested for antimycotic activities, i.e. *Lactobacillus plantarum* kik, *Lactobacillus plantarum* sa, *Lactobacillus plantarum* pi28a, *Lactobacillus plantarum* dd, *Lactobacillus coryneformis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Leuconostoc paramesenteroides*. The research revealed that the promising indigenous LAB which inhibited the contaminating molds was *Lb plantarum* pi28a. Application of *Lb plantarum* pi28a on local cheese production could inhibit the growth of *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp. up to 12 days.

Key words: cheese, contaminating mold, lactic acid bacteria

PENDAHULUAN

Salah satu masalah yang sering ditemui pada industri keju lokal di Indonesia adalah munculnya pertumbuhan kapang kontaminan selama pemeraman dan atau selama penyimpanan. Kapang dan khamir dapat tumbuh pada permukaan keju yang disimpan pada suhu yang tidak tepat (Spangenberg dan Ingham, 2000), karena peningkatan nilai a_w dan pH (Marth dan Yousef, 1991 dalam Nielsen et al., 1998) atau terjadinya kontaminasi kapang pada susu selama proses koagulasi dan pemisahan antara *curd* dan *whey* (Marth, 1987).

Kapang yang banyak mengkontaminasi keju yaitu dari species dari genus *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium*, (Bullerman dan Olivignin, 1974; Bullerman, 1976; Lund dan Frisvad, 1995 dalam Nielsen et al., 1998). Efek negatif dari pertumbuhan kapang ini antara lain timbulnya off-flavour dan kemungkinan produksi mikotoksin pada keju yang dihasilkan (Northolt et al., 1995 dalam Nielsen et al., 1998).

Bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasi keju sangat penting peranannya sebagai kultur starter. Kultur starter berfungsi dalam menentukan karakteristik mutu keju. BAL sebagai kultur starter menghasilkan cita rasa asam yang segar, membantu penggumpalan rennet dan membentuk karakteristik tekstur spesifik pada keju (Daulay, 1991).

Fungsi BAL selain sebagai kultur starter adalah kemampuannya sebagai bahan pengawet alami karena

kandungan metabolit sekundernya. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. BAL juga telah diuji kemampuannya terhadap penghambatan pertumbuhan kapang dan produksi mikotoksin (El-Gendy dan Marth, 1981; Gourama dan Bullerman, 1995; Gourama dan Bullerman, 1997). Aplikasi BAL dalam bahan pangan, kacang-kacangan, juga diketahui mampu menghambat aktivitas dan produksi aflatoksin (Ratnaningrum, 2003; Safitri, 2003; Yanmari, 2003).

Tujuan penelitian ini antara lain (1) mengisolasi dan mengidentifikasi kapang kontaminan pada keju lokal, (2) menguji potensi anti-kapang dari beberapa isolat bakteri asam laktat indigenus Indonesia dan (3) mengaplikasikan bakteri asam laktat yang bersifat anti-kapang pada pembuatan keju lokal.

METODOLOGI

Kultur

Kultur BAL diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan PSPG IPB, Bogor. Isolat BAL yang diuji adalah isolat BAL yang diisolasi dari beberapa makanan khas Indonesia, antara lain *Lactobacillus plantarum* kik (kecap ikan), *Lactobacillus plantarum* sa (sauerkraut), *Lactobacillus plantarum* pi28a (pikel), dan BAL hasil isolasi dari dadih, yaitu *Lactobacillus plantarum* dd, *Lactobacillus coryneformis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc mesenteroides*,

Leuconostoc paramesenteroides. Isolat BAL disimpan dalam agar tegak pada media MRSA (Oxoid) dan dipindahkan dalam 10 ml MRSB (Oxoid) kemudian diinkubasi pada 37°C, 24 jam untuk peremajaan sebelum digunakan untuk uji selanjutnya.

Kultur kapang yang digunakan adalah *Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp. yang keduanya merupakan hasil isolasi dari sampel keju Gouda lokal ("Kemal") dari Malang, Jawa-Timur.

Media

Lab-Lemco tryptone broth (LTB), MRSA (Oxoid), kultur sel BAL dan keju Gouda adalah media yang digunakan. LTB mengandung glukosa (1%), yeast extract (1%), beef extract (1%), tryptone (1%), NaCl (0,5%), dan Na₂HPO₄ (0,2%).

Tahap penelitian

Isolasi dan identifikasi kapang

Tahap isolasi kapang kontaminan keju dilakukan dengan mengambil sampel keju "Gouda" lokal yang telah terkontaminasi kapang (Bullerman, 1976; Samson, 1988). Kultur kapang diisolasi dari sampel keju yang terkontaminasi oleh kapang. Permukaan keju sebelumnya disterilisasi dalam 0,4% klorin (10% larutan klorin komersial) selama ± 2 menit, selanjutnya klorin dihilangkan dengan air steril. Seluruh permukaan keju yang terkontaminasi diiris setebal 2-3 mm dan kemudian dihancurkan dengan blender dan diencerkan dengan air steril. Sebanyak 1 ml larutan sampel diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi PDA (Oxoid) yang telah ditambah dengan 30 ppm tetrasiklin agar tidak terkontaminasi. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25°C dan dilanjutkan identifikasi kapang dengan melihat morfologinya secara mikroskopik (slide culture).

Metode "slide culture", dimulai dengan persiapan cawan petri steril yang telah berisi kaca preparat beserta kaca penutupnya, penyangga dan kertas saring di dasar cawan. Selanjutnya 1-2 tetes PDA steril diteteskan pada kaca preparat secara aseptik dan tunggu hingga kering, kemudian dioleskan 1 ose isolat kapang kontaminan yang akan diuji. Kemudian diteteskan gliserol 10% dengan merata pada kertas saring agar kelembabannya terjaga. Cawan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (30°C) selama 3-5 hari dan siap dilihat morfologinya di mikroskop dengan pembesaran 200x atau 400x.

Seleksi BAL yang bersifat antikapang

Potensi antikapang dari beberapa BAL diuji menggunakan dua metode, yaitu (1) metode kontak pada media cair dan (2) metode difusi sumur. Adapun persiapan yang harus dilakukan adalah sebagai berikut: Persiapan bakteri asam laktat (Fardiaz, 1989)

Bakteri asam laktat ditumbuhkan dalam MRS broth selama 48 jam. Untuk kultur kerja, sebanyak 1 ml

kultur bakteri diinokulasikan ke dalam 9 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Untuk kultur stok, kultur bakteri asam laktat diinokulasikan ke dalam gliserol dengan perbandingan 1:1, kemudian disimpan di dalam freezer pada suhu 4°C. setiap bulan kultur disegarkan kembali.

Jumlah koloni bakteri asam laktat dihitung dengan menggunakan metode hitungan cawan dengan media MRS agar dan jumlah yang diharapkan untuk tahap selanjutnya adalah 10⁶ – 10⁷ cfu/ml.

Persiapan kultur kapang (Fardiaz, 1989)

Kapang ditumbuhkan pada PDA miring (ditambah khloramfenikol atau khlorotetrasiklin 0,3 ppm) selama 4 hari dan disimpan di dalam refrigerator untuk kultur stok. Untuk kultur kerja spora kapang diambil 1 ose spora dan digores di media PDA miring dalam larutan 0,85% NaCl dan dihitung menggunakan metode Petroff-Hauser, jumlah yang diinginkan untuk tahap selanjutnya yaitu 10⁶ – 10⁷ spora/ml.

Seleksi antikapang dari BAL metode kontak pada media cair (Gourama dan Bullerman, 1995)

Sebanyak 0,5 ml kultur BAL (10⁶ sel/ml) diinokulasi pada 50 ml LTB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu ditambahkan sebanyak 0,5 ml spora kapang pengkontaminasi keju hasil identifikasi (10⁶ spora/ml) dan diinkubasi lagi pada suhu kamar selama 14 hari. Selanjutnya dilakukan pengukuran berat miselia kering.

Potensi antikapang dari BAL metode difusi sumur (modifikasi dari Corsetti et al., 1998; Roy et al., 1996)

Spora kapang kontaminan (10⁶ – 10⁷) diinokulasikan ke dalam media PDA steril yang telah dicampur dengan 0,1% Triton X-100. Media tersebut selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 25-30 ml secara aseptik dan ditunggu hingga beku. Kemudian, dibuat lubang sumur pada media dengan diameter 6mm dan ditambahkan ke dalamnya 50µl suspensi sel BAL ke sumur. Setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang (30°C), segera dilakukan pengukuran zona penghambatan di sekitar sumur menggunakan jangka sorong.

Pembuatan keju (Keju "Kemal" Malang)

Persiapan kultur starter mesofilik

Susu segar sebanyak 1 liter dipasteurisasi hingga suhu 72,5°C, kemudian segera didinginkan di inkubator hingga suhu 25°C. Setelah itu ditambahkan starter dan dibiarkan selama 20-24 jam. Untuk pembiakan, lakukan prosedur di atas dan ditambahkan 3% starter yang kemudian diinokulasikan selama 24 jam pada suhu ruang.

Pembuatan keju "Gouda"

Proses awal pembuatan keju ini adalah pemanasan susu segar (pasteurisasi) pada suhu 72,5°C

selama 15 menit. Selanjutnya susu didinginkan hingga tercapai suhu 33°C. Starter ditambahkan sebanyak 2% dari total susu. Penambahan starter dilakukan bersamaan dengan rennet (0,025%), CaCl₂ (0,4%) dan potassium sorbat (0,4%). Susu diaduk perlahan-lahan selama 5 menit dan dibiarkan terjadi koagulasi selama 3 jam. Setelah curd terbentuk, curd dipotong-potong dengan pisau selama 15 menit kemudian biarkan selama 5 menit. Sebagian whey (1/3 bagian) dibuang dari wadah dan diganti dengan air hangat hingga suhu susu mencapai 37°C. Curd diaduk atau dipotong kembali selama 15 menit, kemudian buang ½ bagian whey yang ada dan ganti dengan air hangat hingga suhu susu mencapai 37°C. Curd dipotong-potong sekali lagi selama 15 menit dan segera saring curd agar dapat terpisah dengan whey. Curd diletakkan dalam wadah yang selanjutnya ditekan dua kali dengan beban yang berbeda. Penekanan yang pertama dilakukan dengan beban sama dengan berat curd selama ¼ jam, sedangkan yang kedua dilakukan dengan beban 2 kali beban curd selama 3 jam. Setelah itu keju yang masih dalam wadah dianginkan pada suhu ruang selama 4 jam. Keju selanjutnya direndam dalam larutan garam jenuh selama 12-14 jam. Kemudian keju diperam dalam suhu 5-10°C selama minimal 3 minggu.

Aplikasi perendaman keju dalam suspensi BAL antikapang

BAL antikapang yang dipilih dalam aplikasi ini adalah *Lb. plantarum* pi28a, sedangkan kapang kontaminan yang ditambahkan adalah *Penicillium* sp. atau *Aspergillus* sp. Pada aplikasi ini, keju yang telah ditekan, direndam dalam suspensi *Lb. plantarum* pi28a (10^6 - 10^7 cfu/ml) yang berumur 24 jam (larutan perendam berupa susu skim yang mengandung *Lb. plantarum* pi28a dan garam 20%). Selanjutnya, keju dianginkan sebentar dan kemudian permukaan keju dilapisi dengan spora kapang kontaminan secara merata (*Penicillium* sp. atau *Aspergillus* sp.) sebanyak 10^3 - 10^4 spora/ml dengan cara penyemprotan. Setelah kering, keju diperam dalam ruang pendingin pada suhu 5-10°C selama kurang lebih 3 minggu untuk kemudian diamati pertumbuhan kapang dan BAL pada keju selama pemeraman.

Metode analisis parameter

Persiapan sampel

Sampel keju diambil menggunakan pisau dapur steril. Bentuk kubus (3,0 x 3,0 x 0,25 cm) dipotong secara acak dari 6 sisi balok keju. Sebagai tambahan, diambil sampel dari daerah tengah keju (1,0 x 2,0 cm). Semua sampel (berat total sekitar 100 g) dimasukkan dalam kantong stomaker dan dihancurkan dengan pisau dapur steril. Dari campuran tersebut, diambil 10 g sampel untuk dihomogenisasi dengan 90 ml pepton 0,1% dalam kantong stomaker kecepatan 400 selama 3 menit. Selanjutnya dibuat 1 seri pengenceran desimal yang

dibuat dengan penambahan pepton 0,1% dan sampel siap diinokulasikan pada media spesifik (duplo).

Penentuan pertumbuhan kapang (Fardiaz, 1989; Spangenberg dan Ingham, 2000)

Penentuan pertumbuhan kapang dilakukan dengan menginokulasi 0,2 ml larutan sampel dalam media agar PDA dengan metode tuang. Selanjutnya media diinkubasi selama 4 hari pada suhu 22 -25°C dan selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel.

Penentuan pertumbuhan kultur BAL total (Fardiaz, 1992)

Metode ini dapat dilakukan dengan pengenceran pada larutan 0,85% NaCl sampai jumlah sel dapat dihitung. Pengenceran dilakukan secara desimal yaitu 1:10 ; 1:100 ; 1:1000 dan seterusnya.

Cara inokulasi metode tuang dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,1 ml sampel dari pengenceran yang dikehendaki dan dimasukkan ke dalam cawan steril, kemudian ditambahkan MRS cair steril yang telah didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml. Cawan digoyang agar sampel menyebar rata. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni dalam contoh dapat dihitung sebagai berikut:

$$\sum \text{koloni per ml} = \sum \text{koloni per cawan} / f \text{ pengenceran atau per gram}$$

Berat kering miselia kapang (Gourama dan Bullerman, 1995)

Miselial disaring menggunakan kertas saring dan alat penyaring vakum, selanjutnya miselia dicuci dua kali dengan aquades dan dikeringkan dengan oven suhu 95°C sampai diperoleh berat konstan.

Zona penghambatan kapang

Zona penghambatan merupakan zona bening di sekitar lubang sumur yang menunjukkan adanya aktivitas penghambatan kapang di permukaan media oleh komponen aktif antikapang yang terkandung dalam suspensi BAL yang ada dalam sumuran tersebut. Zona penghambatan diukur diameternya menggunakan jangka sorong dari titik terjauh hingga lingkaran luar dari sumuran. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pada tempat yang berbeda dan kemudian dirata-rata (satuan mm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi kapang kontaminan keju

Hasil isolasi sampel keju Gouda "Kemal", diperoleh dua isolat kapang yang mengkontaminasi keju. Hasil identifikasi mikroskopik untuk mengetahui morfologi kapang menunjukkan bahwa kedua isolat kapang kontaminan keju "Kemal" adalah *Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp. Kedua kapang ini sering mengkontaminasi keju jenis Cheddar, Gouda dan

Parmesan serta memproduksi mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan (Bullerman dan Olivigni, 1974; Taniwaki dan Dender, 1992; Vazquez et al., 1994; Finoli et al., 1999).

Seleksi BAL yang bersifat anti kapang

Metode kontak dalam media cair

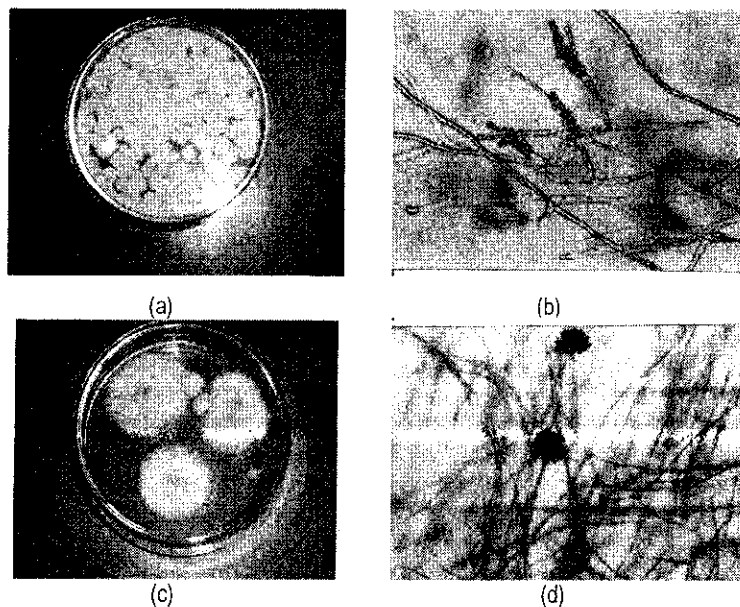
Potensi anti kapang BAL terhadap kapang uji pada metode ini ditunjukkan oleh berat kering miselia yang terukur setelah inkubasi selama 14 hari pada suhu ruang (30°C). Semakin sedikit miselia yang dihasilkan kapang berarti semakin besar aktivitas penghambatan suspensi BAL yang ditambahkan. Hal ini dikarenakan miselium merupakan kumpulan hifa (filamen panjang) yang terbentuk dari germinasi spora kapang, sehingga dapat digunakan sebagai parameter pertumbuhan kapang (Gourama dan Bullerman, 1995^b). Semua isolat BAL yang digunakan (9 isolat) mampu menurunkan berat kering miselia kapang, baik *Penicillium* sp. ataupun *Aspergillus* sp. Berat kering *Penicillium* sp. dengan perlakuan penambahan kultur BAL berkisar antara 0,6 – 5,6 mg/ml. Berat kering miselia *Penicillium* sp. yang terendah (0,6 mg/ml) dihasilkan dari penambahan *Ln. mesenteroides* diikuti oleh *Lb. brevis* dengan berat kering masing-masing sebesar 0,6 mg/ml dan 1,8 mg/ml. Sedangkan berat kering miselia kontrol mencapai 7,4 mg/ml (Gambar 2).

Berat kering *Aspergillus* sp. dengan perlakuan penambahan kultur BAL berkisar antara 1,2 – 4,2. Penghambatan terbesar pertumbuhan *Aspergillus* sp. dihasilkan oleh penambahan *Lb. brevis* dan diikuti oleh *Ln. mesenteroides* dengan berat kering miselia masing-masing sebesar 1,2 mg/ml dan 1,6 mg/ml. Sedangkan

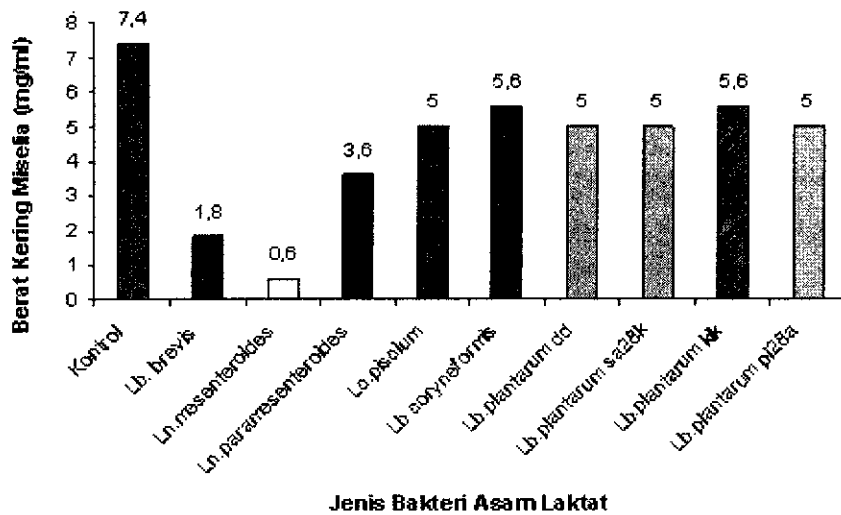
berat kering miselia kontrol mencapai 8,2 mg/ml. (Gambar 3).

Isolat BAL indigenus yang dipakai pada penelitian ini menunjukkan potensi antikapang yang baik terhadap pertumbuhan *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. Hal ini ditunjukkan oleh berat kering miselia kapang dengan penambahan BAL selalu lebih rendah dari kontrol. Hasil ini sesuai dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa perlakuan dengan *Lactobacillus* sp. isolat LAB371, LAB37A1, LAB 251 dan isolat campuran dari silase memberikan berat kering miselia *A. flavus* NRRL 2999 masing-masing sebesar 5,9 , 3,4 , 5,1 dan 5,2 mg/ml setelah inkubasi selama 15 hari (Gourama dan Bullerman, 1995^b). Penelitian El-Gendy dan Marth (1981) menunjukkan bahwa *A. parasiticus* dihambat pertumbuhannya oleh *Lb. casei* dengan berat kering miselia sebesar 1,75 g/100ml setelah inkubasi selama 10 hari.

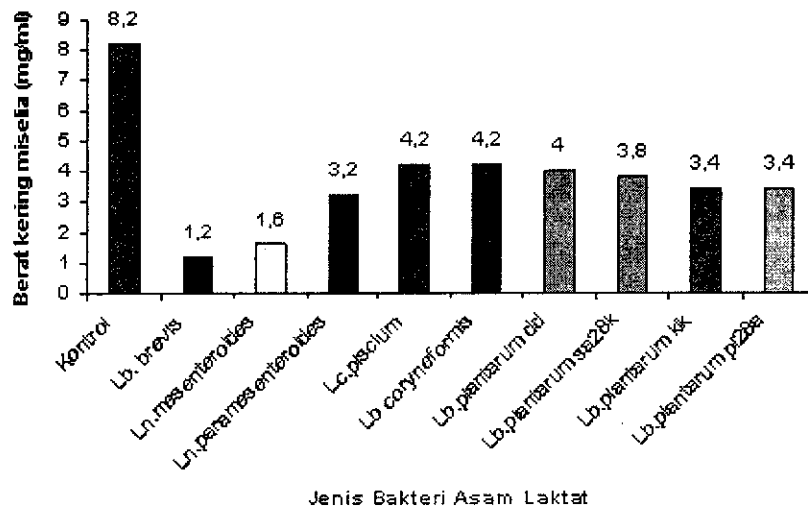
BAL homofermentatif dari hasil uji ini lebih rendah potensi anti kapangnya daripada BAL heterofermentatif, namun dalam aplikasi pembuatan keju BAL homofermentatif yang lebih utama dipilih sebagai kultur starter keju. diinginkan terbentuknya rongga-rongga yang sebenarnya merupakan manifestasi terbentuknya gas CO₂ hasil fermentasi BAL heterofermentatif. Pada akhir tahap ini dipilih dua BAL homofermentatif yang akandigunakan sebagai campuran kultur starter keju, yaitu *Lb. plantarum* sa28k dan *Lb. plantarum* pi28a. Kedua BAL ini dipilih berdasarkan potensinya yang besar diantara BAL homofermentatif lainnya dalam menghambat pertumbuhan kapang kontaminan



Gambar 1. Koloni dan morfologi *Penicillium* sp. (a dan b), dan *Aspergillus* sp. (c dan d) dengan pembesaran 200X



Gambar 2. Pengaruh BAL terhadap berat kering miselia *Penicillium* sp.



Gambar 3. Pengaruh BAL terhadap berat kering miselia *Aspergillus* sp.

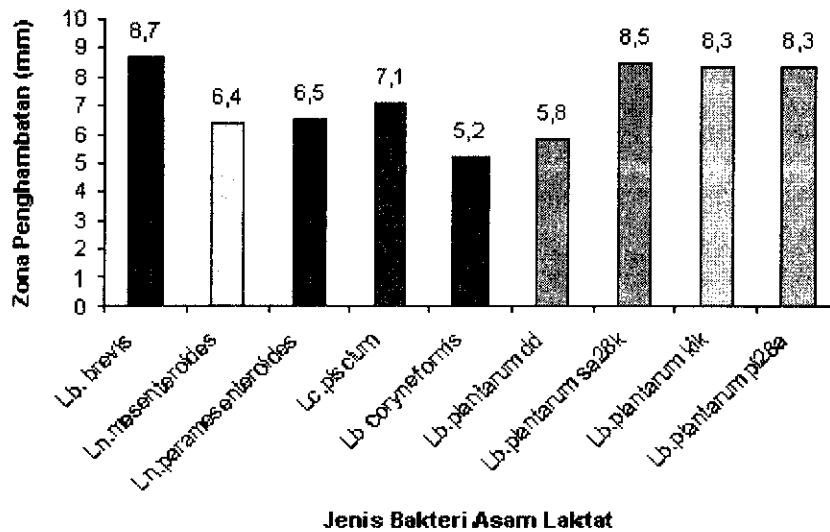
Metode difusi sumur

Kesembilan isolat BAL uji mampu menghambat pertumbuhan kapang *Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp. yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumur.

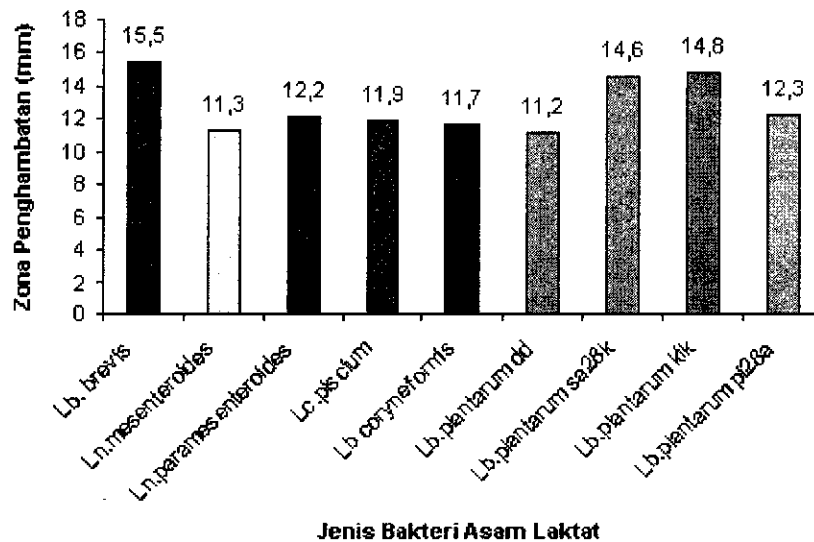
Zona penghambatan terhadap *Penicillium* sp. dari 9 isolat BAL berkisar 5,2 – 8,7 mm. Pertumbuhan *Penicillium* sp. paling dihambat oleh *Lb. brevis* dengan zona penghambatan sebesar 8,7 mm, diikuti oleh *Lb. plantarum sa28k*, *Lb. plantarum kik* dan *Lb. plantarum*

pi28a dengan zona penghambatan masing-masing sebesar 8,5 mm dan 8,3 mm (Gambar 4).

Zona penghambatan terhadap *Aspergillus* sp. dari 9 isolat BAL sekitar dua kali lebih besar dari penghambatannya terhadap *Penicillium* sp. , yaitu antara 11,2 – 15,5 mm. Aktivitas penghambatannya tertinggi terhadap pertumbuhan *Aspergillus* sp. diperoleh dari *Lb. brevis*, diikuti oleh *Lb. plantarum sa28k*, *Lb. plantarum kik* dan *Lb. plantarum pi28a* (Gambar 5).



Gambar 4. Zona penghambatan pertumbuhan *Penicillium* sp. oleh berbagai BAL



Gambar 5. Zona penghambatan pertumbuhan *Aspergillus* sp. oleh berbagai BAL

Seleksi BAL antikapang dengan metode difusi sumur memberikan hasil yang sedikit berbeda dengan metode kontak. Pada metode difusi sumur, potensi antikapang dari BAL tidak mempunyai kecenderungan sebagaimana yang terjadi pada metode Kontak. Hal ini dimungkinkan karena pada metode kontak, BAL ditumbuhkan terlebih dahulu dalam media cair, sehingga BAL tersebut sudah menghasilkan metabolit sekunder termasuk komponen antikapang, sebelum dilakukan penambahan kapang ke dalamnya. Selanjutnya media yang mengandung komponen antikapang ini efektif menghambat pembentukan miselia kapang. Sedangkan pada metode Difusi Sumur, penambahan BAL dilakukan bersamaan dengan kapang uji, yang tidak memungkinkan terjadinya penghambatan kapang secara optimal. Brannen (1983) menyatakan bahwa metode

difusi sumur merupakan salah satu metode yang paling mudah dan cepat untuk menguji kemampuan bahan antimikroba, namun sekaligus mempunyai banyak keterbatasan antara lain sangat dipengaruhi oleh umur mikroba, jenis mikroba, pH dan kadar garam bahan uji, kemampuan bahan berdifusi dalam media serta sifat media ataupun mikroba yang diuji.

Aplikasi perendaman keju dalam suspensi *Lb. plantarum pi28a*

Hasil seleksi BAL antikapang menunjukkan bahwa *Lb. brevis* lebih berpotensi menghambat pertumbuhan *Aspergillus* sp. dan *Ln. mesenteroides* lebih berpotensi menghambat pertumbuhan *Penicillium* sp. Namun, untuk tahap aplikasi pembuatan keju Gouda

dipilih *Lb. plantarum* pi28a yang termasuk BAL homofermentatif sebagai campuran kultur starter keju berdasarkan pertimbangan bahwa *Lb. plantarum* pi28a merupakan BAL homofermentatif yang punya potensi penghambatan kapang terbesar dibanding BAL homofermentatif lainnya. Selain itu, BAL homofermentatif tidak berpengaruh terhadap karakteristik umum keju Gouda.

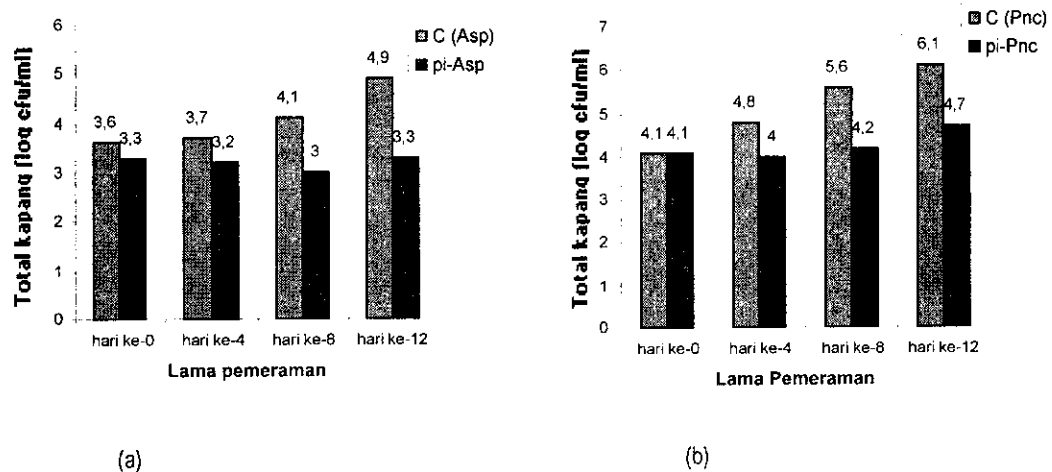
Pada aplikasi ini, keju direndam dalam campuran larutan garam dan suspensi *Lb. plantarum* pi28a yang berumur 24 jam, kemudian secara sengaja ditambahkan kapang kontaminan (*Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp.) pada permukaan keju. Aplikasi ini diharapkan mampu menghambat pertumbuhan kapang kontaminan pada keju.

Pertumbuhan kapang dan BAL

Perlakuan perendaman keju dalam suspensi *Lb. plantarum* pi28a memberikan pengaruh positif terhadap penghambatan kapang kontaminan (Gambar 6). Perlakuan ini mampu menstabilkan pertumbuhan kapang kontaminan selama 12 hari pemeraman. Pada awal pemeraman total kapang pada keju berkisar antara $10^3 - 10^4$ spora/ml, populasinya tetap hingga pemeraman hari ke-12. Hal ini menunjukkan bahwa kapang kontaminan yang tumbuh di permukaan keju akan lebih mudah dihambat pertumbuhannya dengan

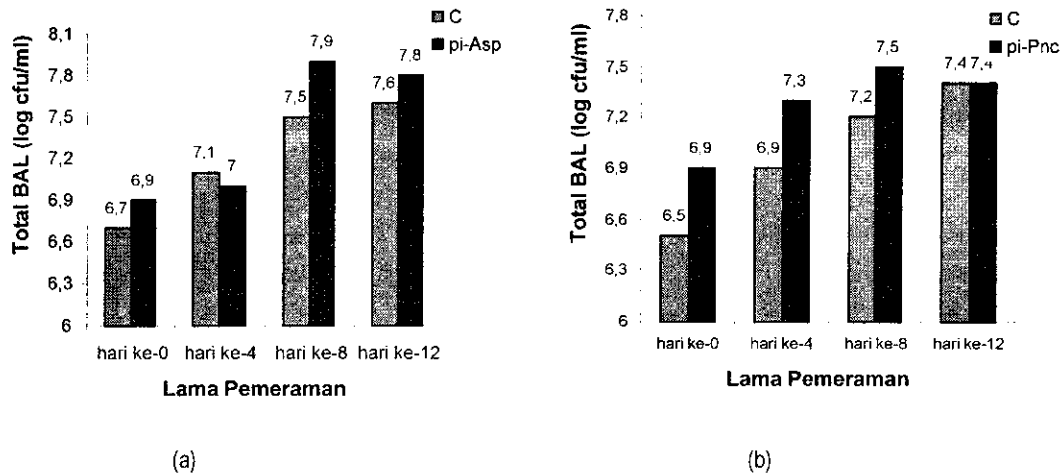
adanya perlakuan kombinasi, yaitu perendaman dalam suspensi BAL bersama-sama dengan garam.

Total BAL pada keju dengan perlakuan perendaman dalam suspensi *Lb. plantarum* pi28a cenderung tidak mengalami peningkatan yang berarti selama 12 hari pemeraman (Gambar 7). Hal ini dimungkinkan karena fase pertumbuhan BAL saat perendaman telah berhenti dan sel BAL mulai memproduksi metabolit sekunder untuk bertahan hidup. Senyawa metabolit sekunder inilah yang dimungkinkan berperan besar sebagai bahan aktif antikapang (Salminen dan Wright, 1993). Aplikasi perendaman keju dalam suspensi *Lactobacillus plantarum* pi28a memberikan efek penghambatan pertumbuhan kapang kontaminan yang lebih besar dibandingkan dengan aplikasi penambahan pada starter. Adanya *Lactobacillus plantarum* pi28a mampu menghambat pertumbuhan *Penicillium* sp. dan *Aspergillus* sp. hingga 12 hari pemeraman. Hasil aplikasi BAL antikapang ini menunjukkan bahwa BAL antikapang dapat digunakan sebagai antimikroba alami yang aman dalam pembuatan keju yang bersifat menghambat pertumbuhan kapang kontaminan.



Gambar 6. Pengaruh perendaman keju dalam suspensi *Lb. plantarum* pi28a terhadap pertumbuhan (a) *Aspergillus* sp. dan (b) *Penicillium* sp.

Ket.: C (Asp) = Kontrol *Aspergillus* sp
 C (Pnc) = Kontrol *Penicillium* sp
 pi-Asp = *Lb. plantarum* pi28a
 pi-Pnc = *Lb. plantarum* pi28a-*Penicillium* sp



Gambar 7. Pengaruh perendaman keju dalam suspensi *Lb. plantarum* pi28a dan penambahan (a) *Aspergillus* sp. dan (b) *Penicillium* sp. terhadap pertumbuhan BAL

Ket.: C pada gambar (a) = Kontrol *Aspergillus* sp
 C pada gambar (b) = Kontrol *Penicillium* sp
 pi-Asp = *Lb. plantarum* pi28a
 pi-Pnc = *Lb. plantarum* pi28a-*Penicillium* sp

DAFTAR PUSTAKA

Bullerman, L.B. and F.J. Olivigni. 1974. Mycotoxin producing potential of molds isolated from cheddar cheese. *J. Food Sci.* 39: 1166 – 1168.

Bullerman, L.B. 1976. Examination of swiss cheese for incidence of mycotoxin producing molds. *J. Food Sci.* 41: 26 – 28.

Corsetti, A., M. Gobbetti, J. Rossi, and P. Damiani. 1998. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria : identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 253 – 256.

Daulay, D. 1991. Fermentasi Keju. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.

El-Gendy, S.M. and E.H. Marth. 1981. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in the presence of *Lactobacillus casei*. *J. Food Prot.* 44: 211 – 212.

Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.

Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Tama. Jakarta.

Finoli, C., A. Vecchio, A. Gali and L. Franzetti. 1999. Production of cyclopiazonic acid by molds isolated from Taleggio cheese. *J. Food Prot.* 62: 1198-1202.

Gardiner, G., R.P. Ross, J.K. Collins, G. Fitzgerald and C. Tanton. 1998. Development of a probiotic cheddar cheese containing human derived *Lactobacillus paracasei* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2192 –2199.

Gourama, H. and L.B. Bullerman. 1995. Antimycotic and antiaflatoxigenic effect of lactic acid bacteria: a review. *J. Food Prot.* 57: 1275 – 1280.

Gourama, H. and L.B. Bullerman. 1995. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. *J. food Prot.* 58: 1249 – 1256.

Jay, J.M. 1996. Modern Food Microbiology. 5th Ed. Chapman and Hall, London.

Lavermicocca, P., F. Aalerio, L. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti, and M. Gobbetti. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4084 – 4090.

Marth EH. 1987. Dairy products. Di dalam: Food and Beverage Mycology. London: Van Nostrand Reinhold.

Nielsen, M.S., J.C. Fisvad, and P.V. Nielsen. 1998. Colony interaction and secondary metabolite production of cheese-related fungi in dual culture. *J. Food Prot.* 61: 1023 – 1029.

- Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 1991.** Significance of fungi in stored products. In: Fungi and Mycotoxins in Stored Products. Proceeding, Thailand.
- Ratnaningrum,W. 2003.** Aplikasi *Lactobacillus plantarum* sa28k untuk menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan mereduksi aflatoksin sebelum pemanggangan dan perebusan kacang tanah polong. Skripsi IPB, Bogor.
- Roy, U., V.K. Batish,S. Grover and S. Neelakartan.1996.** Production of antifungal substances by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CHD-28.3. Int. J. of Food Microbiol. 32: 27-34.
- Safitri,D. 2003.** Penggunaan *Lactobacillus plantarum* pi28a untuk mereduksi pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan kandungan aflatoksin B1 pada pengolahan produk kacang asin. Skripsi IPB, Bogor .
- Samson RA, Reenen-Hoekstra ES van. 1988.** Introduction to food borne fungi. Delft: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Scott, R. 1986.** Cheesemaking Practise, 2nd Ed. Elsevier Applied Science Publisher Ltd., London.
- Spangenberg, D.S. and S.C. Ingham. 2000.** Comparison of methods for enumeration of yeast and molds in shredded low moisture-pasta skim mozzarella cheese. J.Food Prot. 63: 529 – 533.
- Taniwaki, M.H and A.G.F van Dender. 1992.** Occurrence of toxigenic molds in Brazillian cheese. J.Food Prot.55: 187-191.
- Vazquez-Belda, B., C.A. Fente-Sampayo, E. Quinto-Fernandez, C. Franco-Abuin, J.L Rodriguez-Otero and A. Cepeda-Saez. 1996.** Incidence of toxigenic molds in farm-level cheesemaking units from Arzua (La Coruna, Spain). Abstract. Food-Science-and-Technology-International. 1 : 91-95.
- Yanmari, F. 2003.** Penggunaan *Lactobacillus plantarum* a/1 untuk mereduksi pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan kandungan aflatoksin B1 selama penyangraian kacang tanah. Skripsi.IPB, Bogor.