

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN MINUMAN FERMENTASI BERBAHAN
DASAR NIRA SIWALAN (*Borassus flabellifer* Linn) DENGAN SUSU SAPI
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* PATOGEN**

Yayuk Susilawati^{*)}, Dian Ayu Megawati Nisa'

^{*)}Akademi Analisis Kesehatan Delima Husada Gresik

ABSTRACT

*The palm sap (*Borassus flabellifer* Linn) can be processed into the fermented beverages (probiotics) which are expected to maintain than indigestion. The palm sap contain the sucrose sugar that is required for the growth media of the commensal bacteria that is allegedly found in the palm sap of *Lactobacillus* sp. This study aims to prove the administration of the fermented palm sap with cow's milk can inhibit the growth of bacteria of the pathogenic *Escherichia coli*.*

*The research method used the pure experiment and with the control pre test and post test design. The commensal bacteria would be identified and isolated were *Lactobacillus* sp. The palm sap was mixed with the pasteurised cow's milk with the concentration palm sap (sap : milk) 9:1, 7:3, 5:5, 3:7, 1:9, and then it were fermented for 48 hours at a temperature of -4 ° C. The pathogenic bacteria which be used was the bacterium of *Escherichia coli* serotype O146. The examination used the method of the dilution test. The results of the study proved that the administration of the fermented beverages base of the palm sap with cow's milk can inhibited the growth of bacteria of the pathogenic *Escherichia coli*.
Keywords: *The fermented palm sap, Lactobacillus* sp, *Escherichia coli* serotype O146.*

PENDAHULUAN

Nira siwalan atau dikenal masyarakat sebagai legen dapat dibuat menjadi minuman probiotik, karena pada nira siwalan terdapat gula yang merupakan sumber karbon dan terdapat nutrisi yang cukup lengkap sebagai media pertumbuhan bagi bakteri asam laktat salah satunya yaitu *Lactobacillus* sp. Jenis bakteri ini merupakan salah satu bakteri asam laktat yang mampu hidup dalam usus manusia yang jarang dijumpai di usus, sehingga perlu diberikan dalam diet manusia. Dengan diolahnya nira siwalan menjadi minuman probiotik diharapkan dapat mencegah, mengobati dan memelihara dari gangguan pencernaan dan juga meningkatkan nilai ekonomis siwalan sekaligus usaha penganeekaragaman produk pangan (Indarto, 2000).

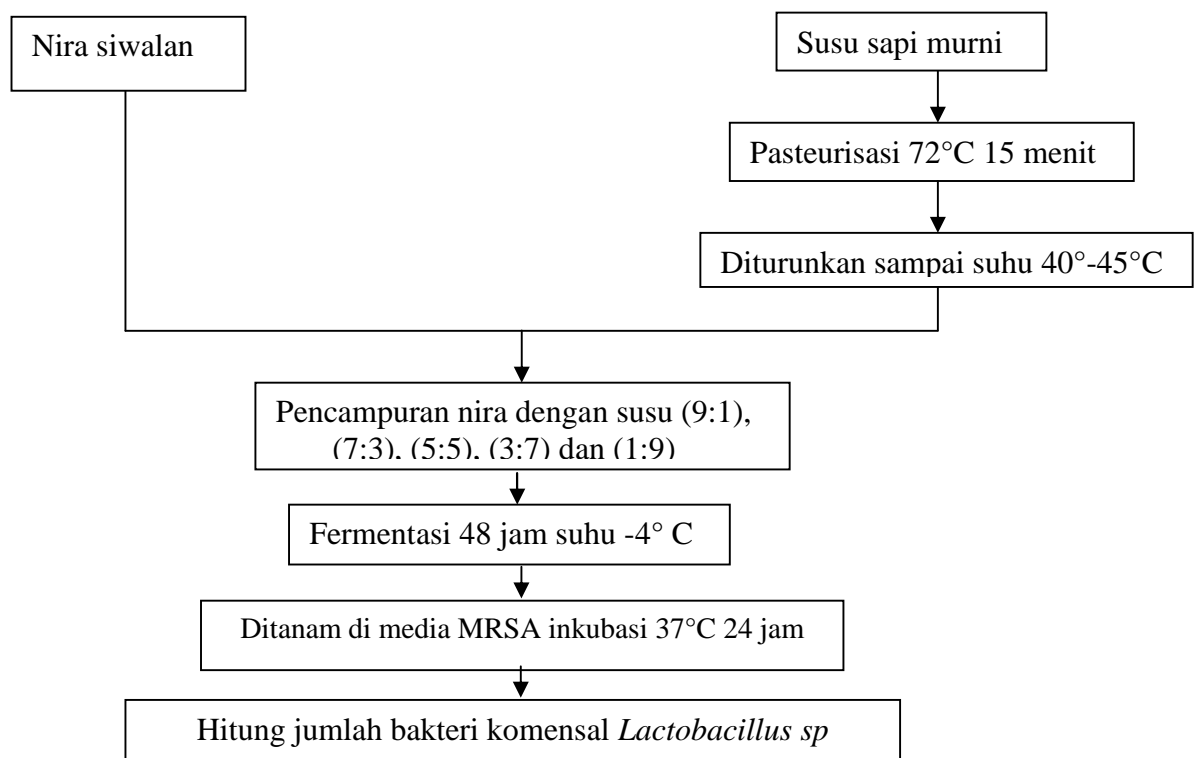
Minuman probiotik terbukti dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk sehingga dapat menjaga keseimbangan mikroflora alami di dalam usus. Gangguan saluran pencernaan (gastroenteritis) yang sering dialami oleh masyarakat pada umumnya salah satu penyebabnya adalah bakteri *Escherichia coli*

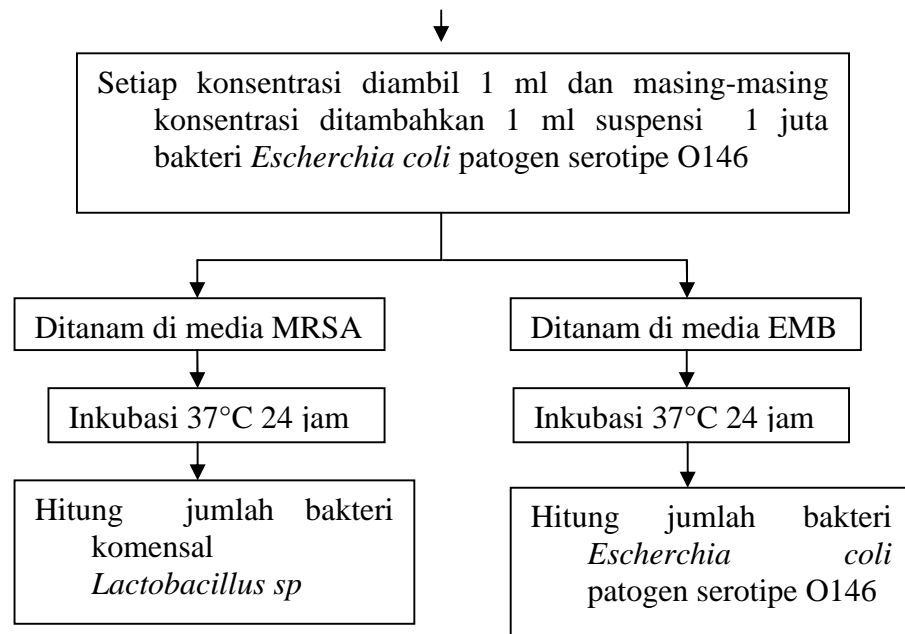
patogen. Penyakit diare yang berkaitan dengan bakteri *Escherchia coli* patogen sangat banyak ditemukan di seluruh dunia (Indarto, 2000). Bakteri *Escherchia coli* patogen yang dianggap sebagai mikroba komensal (menguntungkan) di dalam usus manusia, ternyata beberapa strain merupakan penyebab diare akut baik pada bayi, anak-anak maupun orang dewasa. Strain tersebut antara lain Enteropatogenik (EPEC), Enterotoksigenik (ETEC), Enteroinvasif (EIEC), Enterohemoragik (EHEC) dan Enteroagregatif (Wahyu, 2009 ; Radji, 2010). Dari uraian di atas penulis ingin meneliti efektivitas pemberian nira siwalan (*Borassus flabellifer* Linn) terfermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen.

METODE DAN BAHAN

Desain penelitian yang digunakan adalah *the control group pre and post test design* atau pre tes dan post tes kelompok kontrol. Yaitu penelitian dilakukan dilakukan sebelum dan setelah sampel diberi perlakuan (Elfindri, 2011). Metode penelitian yang digunakan dalam pembuatan karya tulis ilmiah ini adalah eksperimen murni (*pure exsperiment*) yaitu melalui penelitian untuk membuktikan bahwa pemberian nira terfermentasi dengan menambahkan susu sapi terpasteurisasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Esherchia coli* patogen.

Uji pengaruh pemberian minuman nira fermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen.





Keterangan :

MRSA : *deMann Rogosa Sharpe Agar*

EMB : *Eosin Methylene Blue*

Pemilihan pengenceran nira dan susu (9:1), (7:3), (5:5), (3:7), (1:9) menggunakan standart minimal pembuatan minuman berperisa terdapat 1×10^6 CFU/ml bakteri komensal *Lactobacillus sp* (SNI 7552 ; 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian efektivitas pemberian nira terfermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* serotipe O146 dengan metode dilusi yang dilakukan secara invitro di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analis Delima Husada Gresik didapatkan hasil tabel sebagai berikut:

Tabel 1 Hasil uji efektifitas pemberian nira terfermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Escherchia coli* serotipe O146.

No	Konsentrasi nira : susu sapi	Jumlah bakteri komensal <i>Lactobacillus sp</i> (CFU/ml)		Jumlah bakteri patogen <i>Escherchia coli</i> serotipe O146 CFU/ml
		<i>Pre test</i>	<i>Post test</i>	
1	1 : 9	12.3×10^6	11.3×10^6	$0,66 \times 10^6$
2	3 : 7	16×10^6	12.1×10^6	$0,35 \times 10^6$
3	5 : 5	30.8×10^6	16.2×10^6	$0,26 \times 10^6$
4	7 : 3	31.2×10^6	18.3×10^6	-
5	9 : 1	45.6×10^6	19.8×10^6	-

Tabel 2 Jumlah bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 pada 3 media *Eosin Methylen Blue*.

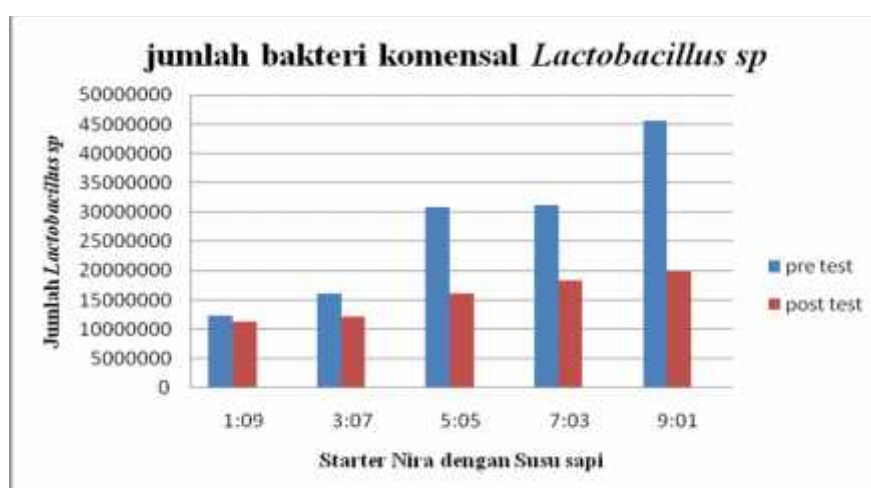
No	Konsentrasi nira : susu sapi	Jumlah bakteri patogen <i>Escherchia coli</i> serotipe O146 (CFU/ml)		
		Media EMB 1	Media EMB 2	Media EMB 3
1	1 : 9	$0,66 \times 10^6$	$0,66 \times 10^6$	$0,66 \times 10^6$
3	3 : 7	$0,35 \times 10^6$	$0,35 \times 10^6$	$0,35 \times 10^6$
4	5 : 5	$0,26 \times 10^6$	$0,30 \times 10^6$	$0,35 \times 10^6$
5	7 : 3	-	-	-
6	9 : 1	-	-	-

Keterangan:

1. CFU (coloni forming unit)
2. *Pre test*: sebelum mendapat perlakuan
3. *Post test*: setelah mendapat perlakuan
4. Negatif (-): tidak ada pertumbuhan
5. Kontrol positif (+) : Bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 10^6 CFU/ml
6. Kontrol negatif (-) : Nira dan susu yang terfermentasi 48 jam suhu -4°C
7. Media EMB : *Eosin Methylen Blue*

Penyajian Data

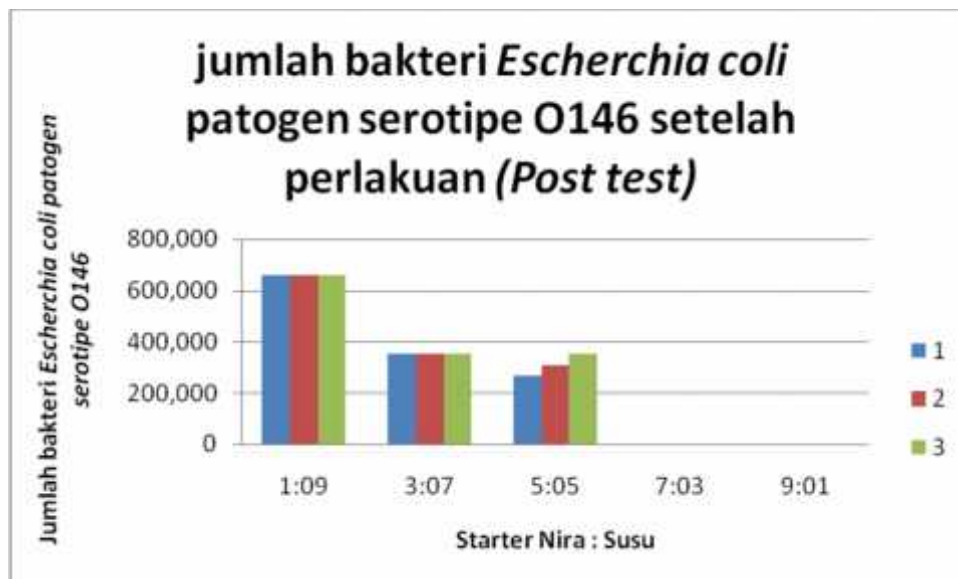
Dari hasil yang telah dijabarkan pada tabel diatas, maka dapat dibuat diagram mengenai adanya efektivitas pemberian minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 sebagai berikut:



Gambar 1 Hasil uji efektivitas pemberian nira terfermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146

Keterangan: *Pre test* : Jumlah bakteri *Lactobacillus sp* sebelum perlakuan.
Post test : Jumlah bakteri *Lactobacillus sp* sesudah perlakuan.

Dari gambar grafik di atas dapat disimpulkan bahwa jumlah bakteri *Lactobacillus sp* paling banyak terdapat pada starter nira dengan susu sapi 9 : 1 atau pada konsentrasi 90 % nira. Variasi konsentrasi nira siwalan dan susu mengacu pada standart SNI 7552 (2009) terdapat bakteri komensal minimal 10^6 CFU/ml untuk memenuhi syarat pembuatan minuman fermentasi berperisa. Efektivitas minimal atau MBC (*Minimum Baktericidal concentration*) minuman fermentasi berbahan dasar nira siwalan dengan susu sapi didapatkan pada starter 7 : 3 atau pada konsentrasi nira 70 %, karena dengan jumlah *Lactobacillus sp* 31×10^6 CFU/ml sudah dapat membunuh semua (100%) bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146. Susu hanya sebagai media pemupuk dan penambah cita rasa dari minuman nira terfermentasi.



Gambar 2 Hasil uji efektivitas pemberian nira terfermentasi dengan susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146.

Keterangan :

biru : Jumlah bakteri *Escherchia coli* serotipe O146 pada media *EMB 1*
 merah : Jumlah bakteri *Escherchia coli* serotipe O146 pada media *EMB 2*
 hijau : Jumlah bakteri *Escherchia coli* serotipe O146 pada media *EMB 3*

Dari gambar grafik di atas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi paling efektif atau MBC (*Minimum Baktericidal Concentration*) minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi pada (nira : susu) 7 : 3 atau konsentrasi nira 70% karena tidak ada pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 (100 % bakteri patogen mati). MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) pada minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi terhadap bakteri *Escherchia coli* patogen O146 terjadi pada konsentrasi nira 10 % (nira : susu) 1:9

karena dengan jumlah *Lactobacillus sp* 12×10^6 CFU/ml sudah bisa menghambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146.

Pembahasan

Setelah dilakukan penelitian uji pendahuluan tentang kandungan mikroflora dalam nira yang berada di desa Sendang kabupaten Lamongan diidentifikasi adanya bakteri *Lactobacillus sp*. Penentuan jumlah bakteri *Lactobacillus sp* dalam nira dilakukan dengan pemilihan starter nira dengan susu sebagai berikut (Nira : Susu) 1:9, 3:7, 5:5, 7:3, 9:1 berdasarkan standart SNI terdapat bakteri komensal minimal 10^6 CFU/ml pada pembuatan minuman berperisa (SNI 7552, 2009). Metode yang digunakan adalah Angka Lempeng Total (ALT). Bakteri *Lactobacillus sp* merupakan bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran cerna, salah satu bakteri patogen pada saluran pencernaan yaitu *Escherchia coli* patogen serotipe O146 yang kemudian menjadi bakteri uji dalam penelitian ini. Kemampuan *Lactobacillus sp* dalam menghambat bakteri patogen *Escherchia coli* patogen serotipe O146 dapat dilihat setelah diujikan pada tiap konsentrasi nira siwalan dan susu, yang kemudian ditambahkan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 masing-masing sebanyak 10^6 CFU/ml. Setelah dilakukan penanaman maka dapat dilihat bahwa ada pengaruh hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 tetapi jumlah bakteri *Lactobacillus sp* mengalami penurunan. Mekanisme *Lactobacillus sp* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 dengan cara menurunkan pH karena bakteri *Lactobacillus sp* memproduksi asam laktat sehingga mempengaruhi pH lingkungan dan *Lactobacillus sp* juga memproduksi senyawa-senyawa organik dan bakteriosin. Bakteriosin antara lain : 1) hidrogen peroksida, 2) asam lemah, 3) reutrin dan 4) diasetiel. Senyawa-senyawa tersebut juga berfungsi untuk memperlama masa simpan dan meningkatkan keamanan produk pangan. Masing-masing peranan dari bakteriosin tersebut adalah sebagai berikut (Wikipedia, 2013):

1. Hidrogen peroksida berperan untuk melindungi selnya terhadap keracunan oksigen. H_2O_2 dapat bereaksi dengan senyawa lain (contohnya tiosianat endogen dalam susu mentah) hingga menghasilkan senyawa penghambat mikroorganisme lain. Mekanisme ini disebut sebagai sistem antimikroba laktoperoksidase.
2. Asam laktat dan asam lemah lain yang dihasilkan bakteri asam laktat dapat memberikan efek bakterisidal untuk bakteri lain karena pH lingkungan dapat turun menjadi 3-4,5. Pada pH tersebut, bakteri asam laktat tetap dapat hidup sedangkan bakteri lain, termasuk bakteri pembusuk makanan yang merugikan akan mati.
3. Reuterin adalah senyawa antimikroba efektif untuk melawan berbagai jenis bakteri (bersifat spektrum luas), yang diproduksi oleh *Lactobacillus reuteri* selama pertumbuhan anaerobik terjadi dengan keberadaan gliserol.
4. Diasetiel adalah senyawa yang menentukan rasa dan aroma mentega, serta aktif melawan bakteri gram negatif, khamir, kapang.

Sedangkan bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus sp* adalah nisin. Nisin dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen, nisin adalah bakteriosin yang diakui penggunaannya dalam bahan makanan oleh *Food and Drugs Administration* (FDA) Amerika Serikat, *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan *World Health Organization* (WHO) (Holzapfel *et. al*,1995).

Mekanisme antimikrobia bakteriosin untuk melawan sel yang sensitif akan dihasilkan melalui destabilisasi dari fungsi membran sebagai keseimbangan barier dan generator energi. Beberapa strain juga akan mengalami lisis. Sel penghasil bakteriosin akan mengalami ketahanan terhadap bakteriosin yang dihasilkannya sendiri, disebabkan memperoleh ketahanan protein yang spesifik. Bakteriosin ini pada umumnya sangat efektif melawan sel dari gram positif maupun gram negatif (Ray, 1992). *Lactobacillus sp* memiliki mekanisme kerja dengan tidak dapat mendisosiasi asam organik yang masuk ke dalam sel bakteri dan mendisosiasi sitoplasma, penurunan pH intraseluler secara berkala atau akumulasi interseluler dari ionisasi asam organik sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Markas *and* De vyust, 2006). Penghambatan *Lactobacillus sp* terhadap *Escherchia coli* patogen dilakukan dengan merusak dinding sel sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat pertumbuhan dinding sel pada sel bakteri yang sedang tumbuh, merubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrisi di dalam sel, penghambat sintesis protein dan asam nukleat dengan cara mendenaturasikan protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim intraseluler sehingga mengganggu metabolisme sel (Pelezar *and* Chan, 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi terbukti mengandung bakteri asam laktat genus *Lactobacillus sp*.
2. Minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 atau dapat berfungsi sebagai antimikroba.
3. Konsentrasi yang efektif atau MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) nya yaitu pada starter (nira : susu) 7:3 atau konsentrasi nira 70% dimana bakteri *Escherchia coli* patogen serotipe O146 mati semua (100%).
4. MIC (*Minimun Inhibition Concantration*) pada minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi terjadi pada starter (nira : susu) 1 : 9 atau konsentrasi nira 10%.

Saran

1. Dilakukan penelitian uji efektivitas pemberian minuman fermentasi nira dengan susu sapi terhadap bakteri lain dan metode lain.

2. Dilakukan penelitian uji efektivitas pemberian minuman fermentasi nira dengan susu lain.
3. Produk minuman fermentasi berbasis nira siwalan dengan susu sapi semoga dapat diproduksi dan dikembangkan, sehingga dapat dikenal oleh masyarakat dan bermanfaat bagi kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, 1984. Kimia dan Teknologi Pengolahn Air Susu, Edisi Kedua, Andi Offset, Yogyakarta.
- Asrofi, 2013. Daya Hambat Rebusan Daun Kitolod Terhadap Bakteri *Streptococcus viridan*, Karya Tulis Ilmiah Akademi Analis Kesehatan Delima Husada, Gresik.
- Elfindri, 2011. Metodologi Penelitian Kesehatan, Boduose, Jakarta.
- Heyne, 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia I, Yayasan Sarana Wanajaya, Jakarta.
- Holzapfel *et.al.*, 1995. Biological Preservation of Foods with Reference to Protective Cultures, Bacteriocins and Food-Grade enzymes, Int. J. Food Microbiol. 24: 343-362.
- Honsha, Yakult, 1990. Yakut Fermented Milk Drink to Promote Health, Yakult Honsha Co. Ltd, Tokyo, Japan.
- Indarto, *et al.*, 2000. Minuman Probiotik Nira Siwalan: Kajian Lama Penyimpanan Terhadap Daya Antimikroba *Lactobacillus casei* Pada Beberapa Bakteri Patogen, Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi, Vol I (1), Surabaya.
- Istiqomah, 2010. Pabrik Gula dari Nira Siwalan dengan Proses Fosfatasi-Flotasi, <http://digilib.its.ac.id/public/ITS-paper-24996-2309030075-2309030088-Presentation.pdf>, Surabaya, diakses tanggal 12 Juni 2014.