

# MAKALAH PENELITIAN

## PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI F-11 PENGHASIL BAKTERIOSIN SEBAGAI AGENSIA BIOKONTROL ESCHERICHIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS PADA SAYURAN SEGAR SIMPAN DINGIN

(*Bacteriocin produces Pediococcus acidilactici F-11 as biocontrol agent against Escherichia coli and Staphylococcus aureus of fresh vegetables stored at refrigerator*)

Endang S. Rahayu<sup>1\*)</sup>, Ani Harmayani<sup>1)</sup>, Tyas Utami<sup>1)</sup>, and Kejora Handarini<sup>2)</sup>

### ABSTRACT

Our survey indicated that fresh vegetables contained high population of microorganisms including pathogenic *Staphylococcus aureus*. Washing procedures, including the addition of sanitizer to the wash water have not been effectively in reduction of the number of microorganisms. Currently, there is interest in possible use bacteriocin producer of lactic acid bacteria as biocontrol agents to ensure safety of minimally processed, refrigerated (MPR) foods which are not acidified, including fruits and vegetables.

Our previous result, indicated that *Pediococcus acidilactici* F-11 (PAF-11) produced bacteriocin with wide spectrum activity. Objectives of this research was to study the potency of PAF-11 as biocontrol agent to inhibit the growth of pathogenic bacteria occurred in ready to eat fresh vegetables, i.e., paprika, lettuce, carrot.

The results showed that PAF-11 was able to inhibit the growth of naturally present coliform and *Staphylococcus* significantly, as well as that of tested bacteria of *E. coli* and *S. aureus* which were inoculated into paprika and carrot. PAF-11 was able to grow at these two vegetables, and their population were increased about 1 log cycle. Bacteriocin activity produced by PAF-11 was positively detected from these two vegetables inoculated with these bacteria. However, there was no inhibition activity of PAF-11 against naturally present coliform and *Staphylococcus*, as well as inoculated *E. coli* and *S. aureus* on lettuce. Bacteriocin activity produce by PAF-11 was also not detected in this vegetables. Conclusion of this study, *Pediococcus acidilactici* F-11 could be used as biocontrol agents in paprika and carrot.

**Keywords :** bacteriocin-producer, lactic acid bacteria, biocontrol, fresh vegetables

### PENDAHULUAN

Sayuran segar memiliki populasi mikrobia berkisar antara  $10^2 - 10^9$  CFU/g, dengan predomnan mikrobia adalah Gram negatif bentuk batang termasuk *Pseudomonas* spp., dan *Enterobacter* spp. Bakteri asam laktat yang penting pada sayuran dan buah-buahan yang difermentasi (asinan) berjumlah kurang dari 1 % dari total populasi (Lund, 1992; Nguyen-the dan Carlin, 1994). Sayuran segar tidak terbebas dari bakteri patogen penyebab infeksi atau intoksikasi pada manusia yang mengkonsumsi. Bakteri patogen ini dapat berasal dari lingkungan saat sayuran segar

masih di kebun ataupun dari kontaminasi saat pemanenan dan penanganan. Sayuran segar siap santap berbentuk potongan atau irisan, dapat terkontaminasi oleh bakteri patogen yang berasal dari peralatan yang dipergunakan, pekerja, ataupun dari kontaminasi silang. Beberapa patogen yang dimungkinkan terdapat pada sayuran segar ataupun produknya (salad) yaitu *Listeria monocytogens*, *Salmonella*, *Shigella*, enteropatogenik *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* (Garcia-Gimeno dkk, 1996; Nguyen-the dan Carlin, 1994; Kaneko dkk, 1999). Perkembang-biakan bakteri patogen ini sangat dipengaruhi oleh jenis sayuran dan kondisi penyimpanan (suhu dan kelembaban) dan mikrobia kompetitor yang lain. Pada kondisi yang sesuai, populasi patogen dapat mencapai  $10^7$  CFU/g pada sayuran segar siap santap (Beuchat dkk, 2001). Berbagai usaha telah dilakukan dengan tujuan untuk menurunkan populasi mikrobia pada permukaan sayuran, misalnya dengan pencucian menggunakan disinfektan klorin, namun penurunan mikrobia kurang dari 2 log cycle (Beuchat dkk, 1998).

Penggunaan biomasa hidup bakteri asam laktat (BAL) sebagai agensia biokontrol untuk menjamin keamanan makanan non-asam yang diproses minimal dan didinginkan telah banyak dilakukan, bahkan telah sampai pada skala industri, khususnya untuk produk daging dan susu. Gilliland dan Speck (1975) dan Raccach dkk, (1979) menginkulasikan biomassa BAL sekitar  $10^8$  CFU/g pada daging simpan dingin untuk memperpanjang masa simpan dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Vescoso dkk, (1996), telah mengisolasi BAL psikrotropik penghasil bakteriosin dari salad sayuran segar yang selanjutnya digunakan untuk biokontrol produk salad. Dilaporkan bahwa strain BAL yang digunakan dapat menekan pertumbuhan patogen *Listeria monocytogens*, *Salmonella typhimurium* dan *Staphylococcus aureus* yang diinokulasikan pada salad. Breidt dan Fleming (1997) melaporkan bahwa *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *Lactobacillus plantarum* yang diinokulasikan secara terpisah pada mentimun yang didinginkan dapat menekan pertumbuhan *L. monocytogenes*.

Pada penelitian ini agensia biokontrol *Pediococcus acidilactici* F-11 penghasil bakteriosin diaplikasikan pada beberapa sayuran segar, untuk dilihat potensi penghambatannya terhadap mikrobia alami atau terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada sayuran.

<sup>1)</sup> Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada

<sup>1\*)</sup> Kontak Person, E-mail : [endangyk@yogyawa.santara.net.id](mailto:endangyk@yogyawa.santara.net.id)

<sup>2)</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Dr. Soetomo Surabaya

## METODE PENELITIAN

### Survei mikrobiologi sayuran segar penyusun salad

Tahapan ini dilakukan dengan mengambil semua jenis sayuran mentah/segar yang dihidangkan oleh restoran yang menyajikan salad. Sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan dibawa ke-laboratorium dalam termos es. Di laboratorium, segera dilakukan uji mikrobiologi yang meliputi bakteri asam laktat, *coliform*, total *staphylococci*, total mikrobia aerobik, total mikrobia psikrofilik, total yeast dan mold. Data mikrobiologi yang diperoleh dari survei ini digunakan sebagai dasar untuk penelitian berikutnya, yaitu untuk menentukan jumlah bakteri uji yang akan diaplikasikan ke dalam sayuran.

### Kultur bakteri

Kultur yang digunakan adalah *Pediococcus acidilactici* F-11 penghasil bakteriosin sebagai agensia biokontrol, *Pediococcus acidilactici* LB-42 sebagai bakteri indikator untuk uji bakteriosin (Nugroho dan Rahayu 2003), *Escherichia coli* FNCC 0091 dan *Staphylococcus aureus* FNCC 0167 sebagai bakteri uji di dalam penelitian ini. Kultur diperoleh dari *Food and Nutrition Culture Collection* (FNCC), Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada.

Pembuatan kultur stok masing-masing bakteri dilakukan dengan menambahkan campuran 10 % susu skim dan 20 % gliserol steril pada biomassa-sel hasil sentrifugasi pada *cryo-tubes* dan dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu - 40 °C. Untuk peremajaan, kultur BAL ditumbuhkan pada media pepton glukosa yeast ekstrak (PGY) dan bakteri uji pada media nutrient cair, selama 24 jam pada suhu 37 °C.

### Produksi biomassa *Pediococcus acidilactici* F-11 dan *E. coli* dan *S. aureus*.

Produksi biomassa dilakukan dengan menumbuhkan kultur PAF-11 pada media cair pepton glukosa dan yeast ekstrak (PGY), pada suhu 37 °C, selama 24 jam. Kultur selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm, selama 20 menit, supernatan dibuang, dan pellet biomassa dicuci dengan 0,85 % NaCl satu kali. Biomasa diencerkan dengan 0,85 % NaCl sesuai dengan jumlah yang diperlukan di dalam perlakuan. Produksi biomassa *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur tersebut pada media nutrient cair, suhu 37 °C, selama 24 jam. Kultur disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm, selama 20 menit, supernatan dibuang dan pellet dicuci dengan 0,85 % NaCl satu kali. Biomasa diencerkan dengan 0,85 % NaCl sesuai dengan jumlah yang diperlukan.

### Perlakuan sayuran segar siap santap dengan agensia biokontrol dan bakteri uji

Sayuran yang digunakan adalah paprika, selada dan wortel yang diperoleh dari supermarket. Masing-masing sayuran dicuci bersih dengan air keran, lalu dibilas dengan aquades. Paprika dan selada dipotong-potong dengan pisau steril, sedang wortel diparut dengan parutan steril. Masing-masing sayuran ditimbang @ 10 g dan dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup yang steril dan siap untuk

diperlakukan sebagai berikut (Beuchat dkk, 2001) : **A.** Sebagai kontrol, disemprot dengan aquades steril; **B.** disemprot dengan biomassa sel *Pediococcus acidilactici* F-11; **C.** disemprot dengan biomassa sel *Pediococcus acidilactici* F-11, *E. coli* dan *S. aureus*; **D.** disemprot dengan *E. coli* dan *S. aureus*; Masing-masing set perlakuan disimpan pada suhu 10 dan 4 °C. Uji mikrobiologi dilakukan pada interval waktu tertentu terhadap masing-masing perlakuan.

### Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi yang dilakukan terhadap sayuran segar dan sayuran yang diperlakukan dan disimpan pada masing-masing suhu meliputi : total mikrobia aerob dengan media plate count agar (PCA), inkubasi pada suhu 30 °C, selama 24-48 jam, total mikrobia psikrofilik dengan media PCA (suhu 4 °C, 7-10 hari), total yeast dan mold dengan media MEA (suhu 30 °C, 24-48 jam), bakteri asam laktat dengan media PGY yang ditambah dengan 1% CaCO<sub>3</sub> (suhu 37 °C, 24-48 jam), *E. coli* dengan media violet red bile agar (VRBA) (37 °C, 24-48 jam), dan *Staphylococcus aureus* dengan media Baird Paker Agar (suhu 37 °C, 24-48 jam).

### Uji aktivitas bakteriosin (Biswass *et al.*, 1991)

Pengujian aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh PAF-11 pada saat tumbuh pada sayuran dilakukan menggunakan metoda sumuran yang dikembangkan oleh Biswass *et al.*, 1991, menggunakan *P. acidilactici* LB-42 sebagai bakteri indikator. Sampel yang diujikan sebanyak 25 µl berasal dari supernatan dari sayuran yang telah dihomogenisasi dengan diluen (0,85% NaCl) untuk uji mikrobiologi.

### Analisa pH dan total asam

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dan analisa asam dilakukan dengan titrasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### SURVEI MIKROBIOLOGI PADA SAYURAN SEGAR PENYUSUN SALAD

Sayuran segar penyusun salad pada umumnya meliputi selada, paprika, wortel, tomat dan bawang bombai. Sebelum disajikan semua sayuran tersebut telah mengalami proses pencucian, pengupasan dan pengecilan ukuran sehingga lebih mudah disajikan dan menarik untuk dikonsumsi.

Dari hasil uji mikrobiologi diperoleh bahwa, nilai total mikrobia aerobik mesofilik dari kelima jenis sayuran (Gambar 1) adalah berkisar antara 10<sup>6</sup> s/d 10<sup>8</sup> CFU/g. Angka yang sama juga diperoleh dari hasil penelitian Brocklehurst dkk, (1987) yang menyatakan bahwa kandungan total mikrobia salad yang berisi campuran sayuran adalah 10<sup>7</sup> s/d 10<sup>9</sup> CFU/g. Angka lebih rendah diperoleh dari survei yang dilakukan oleh Kaneko dkk (1999), dari hasil uji salad sayuran yang diambil di Tokyo dan sekitarnya, rata-rata populasi total mikrobia aerobik adalah log 5,7 ± 0,9 CFU/g (atau sekitar 10<sup>5</sup> CFU/g).

Total mikrobia aerobik dari yang tertinggi berturut-turut adalah wortel, selada, paprika, tomat dan bawang bombai. Kandungan mikrobia pada wortel mencapai  $10^8$  CFU/g karena adanya pengupasan dan pengecilan ukuran, juga didukung oleh komponen gula yang terkandung pada wortel yang relatif lebih tinggi dibandingkan sayuran yang lain. Hasil uji menunjukkan bahwa kandungan coliform pada sayuran segar cukup tinggi yaitu  $10^4$  s/d  $10^6$ , jumlah ini melebihi jumlah coliform yang umum berlaku pada produk segar simpan dingin, yaitu  $10^2$  s/d  $10^3$  (ICMSF, 1998). Total coliform tertinggi dijumpai pada salad. Total staphylococci sayuran segar adalah  $10^3$  s/d  $10^4$  CFU/g, sedangkan yeast dan mold adalah  $10^3$  CFU/g. Total bakteri asam laktat adalah  $10^4$  s/d  $10^5$  CFU/g, dengan jumlah dari yang tertinggi berturut-turut adalah tomat, wortel, paprika, bawang bombai dan selada. Jumlah BAL yang tinggi pada tomat karena pH sayuran ini rendah, sekitar pH 4, sedangkan selada dengan pH mendekati netral memiliki populasi BAL yang paling rendah.

Pada penelitian ini populasi BAL pada sayuran ditingkatkan menggunakan strain penghasil bakteriosin (*Pediococcus acidilactici* F-11) dengan tujuan untuk menekan pertumbuhan coliform dan staphylococci pada sayuran segar. Berdasarkan hasil survei, dipilih paprika, wortel dan selada untuk penelitian berikutnya karena sayuran ini mengandung mikrobia relatif lebih tinggi dibandingkan dua sayuran yang lain (tomat dan bawang bombai).

#### Aplikasi *Pediococcus acidilactici* F-11 pada sayuran

##### Paprika

Hasil perlakuan paprika dengan *Pediococcus acidilactici* F-11 (PAF-11) dan kemampuan bakteri ini menghambat bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* maupun mikrobia yang secara alami terdapat pada sayuran ini disajikan pada Gambar 2 (untuk paprika yang disimpan pada suhu  $10^\circ\text{C}$ ) dan Gambar 3 (untuk suhu  $4^\circ\text{C}$ ).

Gambar 2 menunjukkan populasi bakteri yang secara alami terdapat pada paprika (bakteri aerob, coliform, staphylococcus) meningkat 2-3 *log cycle* selama penyimpanan pada suhu  $10^\circ\text{C}$ , selama 10 hari. Bakteri asam laktat yang jumlah awalnya  $10^4$  CFU/g meningkat satu *log cycle* sampai dengan hari keenam, namun selanjutnya menurun pada akhir penyimpanan, sedangkan yeast dan mold meningkat kurang dari 1 *log cycle* selama penyimpanan (Gambar 2-A). Berbagai jenis mikrobia yang secara alami terdapat pada paprika mengalami pertumbuhan cukup pesat, karena paprika yang sebelum disimpan mengalami pengecilan ukuran, memberikan nutrisi yang cukup lengkap, seperti halnya dikemukakan oleh Abdul-Raouf *et al.*, (1993).

Populasi *Pediococcus acidilactici* F-11 yang ditambahkan pada paprika dengan jumlah sel awal  $10^7$  CFU/g meningkat satu *log cycle* lebih sedikit, selama penyimpanan pada suhu  $10^\circ\text{C}$ , selama 10 hari (Gambar 2-B dan 2-C). Pada penelitian ini, populasi PAF-11 yang ditambahkan pada sayuran segar dihitung sebagai populasi BAL. Populasi BAL alami pada paprika adalah rendah, yaitu  $10^4$  CFU dan hanya meningkat satu *log cycle* selama penyimpanan, sehingga pada saat sayuran ini diperlakukan dengan PAF-11 yang jumlahnya jauh lebih tinggi, maka

peningkatan populasi BAL didominasi oleh PAF-11. Dari hasil diperoleh bahwa *Pediococcus acidilactici* F-11 dapat menekan pertumbuhan coliform maupun *Staphylococcus* (yang secara alami terdapat pada sayuran) sebanyak satu *log cycle* (Gambar 2-B). Tanpa penambahan PAF-11, peningkatan populasi kedua kelompok bakteri ini pada paprika mencapai 3 *log cycle* selama penyimpanan (Gambar 2-A), namun dengan adanya penambahan PAF-11, peningkatan populasi kedua bakteri ini hanya terjadi 2 *log cycle* (Gambar 2-B).

Populasi bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* yang diinokulasikan pada paprika dengan sel awal  $10^5$  CFU/g, ternyata setelah penyimpanan pada suhu  $10^\circ\text{C}$  masing-masing meningkat 3 dan 4 *log cycle* (Gambar 2-D), namun apabila inokulasi kedua bakteri uji dilakukan bersamaan pula dengan penambahan PAF-11, maka pertumbuhan bakteri uji dapat ditekan sekitar 1 *log cycle* (Gambar 2-C), yaitu ditunjukkan dengan peningkatan masing-masing populasi yang hanya mencapai 2 dan 3 *log cycle*.

Perubahan nilai pH yang terjadi pada paprika adalah sebagai berikut, nilai pH paprika segar adalah 5,7, setelah penyimpanan selama 10 hari pH mengalami penurunan mencapai 5. Di lain pihak, paprika yang diinokulasi dengan PAF-11, pHnya menurun sampai 4,7. Penurunan pH ini sejalan dengan pertumbuhan BAL pada masing-masing paprika. Bakteri asam laktat yang secara alami terdapat pada paprika (dengan populasi kurang lebih  $10^4$  CFU/g) selama penyimpanan pada suhu  $10^\circ\text{C}$  mengalami peningkatan satu *log cycle* sehingga pH turun sampai angka 5, sedang PAF-11 yang diinokulasikan sebanyak  $10^7$  CFU/g dan selama penyimpanan populasinya meningkat lebih dari satu *log cycle*, mampu menurunkan pH lebih rendah lagi, yaitu mencapai 4,7.

Profil mikrobiologi paprika yang disimpan suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 10 hari disajikan pada Gambar 3. Populasi mikrobia alami yang terdapat pada paprika yang disimpan suhu  $4^\circ\text{C}$  ternyata juga mengalami peningkatan, walaupun hanya 1 *log cycle*, kecuali yeast dan mold yang jumlahnya cenderung menurun selama penyimpanan (Gambar 3-A). Dengan inokulasi PAF-11, pertumbuhan coliform ataupun *Staphylococcus* (yang secara alami terdapat pada paprika) dapat ditekan sehingga selama penyimpanan jumlahnya cenderung konstan (Gambar 3-B). Bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* yang diinokulasikan pada paprika (dengan jumlah mencapai  $10^5$  CFU/g) selama penyimpanan suhu  $10^\circ\text{C}$  rata-rata mengalami peningkatan jumlah sekitar 1 *log cycle* (Gambar 3-D), namun kedua bakteri ini terhambat pertumbuhannya saat paprika juga diinokulasi dengan *P. acidilactici* F-11 (Gambar 3-C).

Perubahan pH paprika yang disimpan suhu  $4^\circ\text{C}$  juga sejalan dengan pertumbuhan BAL. Nilai pH awal paprika 5,7 selama penyimpanan turun menjadi 5,5 baik yang diinokulasi dengan PAF-11 atau yang tanpa inokulasi. Bakteri asam laktat pada paprika dengan kedua perlakuan ini tidak tumbuh dengan subur sehingga tidak memberikan penurunan pH yang mencolok.

Dari keseluruhan hasil dapat disimpulkan bahwa paprika yang diinokulasi agensia biokontrol PAF-11 dapat menekan pertumbuhan coliform dan *Staphylococcus* yang secara alami ada maupun bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* yang diinokulasikan ke dalam paprika, baik yang disimpan pada suhu 10 dan  $4^\circ\text{C}$ .

## Selada

Hasil perlakuan selada dengan agensia biokontrol *Pediococcus acidilactici* F-11 dan kemampuan bakteri ini untuk menghambat bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* disajikan pada Gambar 4 (penyimpanan pada suhu 10°C) dan Gambar 5 (penyimpanan pada suhu 4°C).

Gambar 4-A menunjukkan pertumbuhan mikrobia alami yang terdapat pada selada siap santap yang disimpan pada suhu 10°C. *Coliform* dan *Staphylococcus* meningkat sampai dengan 2-3 *log cycle*, sedangkan bakteri asam laktat (populasi awal  $2 \times 10^4$  CFU/g) yang membutuhkan komponen gula sederhana untuk metabolismenya nampak tidak menunjukkan adanya pertumbuhan yang nyata. Gambar 4-B menunjukkan bahwa *P. acidilactici* F-11 yang ditambahkan pada selada tidak dapat tumbuh dengan baik sehingga tidak nampak efek penghambatannya terhadap coliform, *staphylococcus* yang secara alami terdapat pada selada (Gambar 4-B) ataupun bakteri uji yang ditambahkan (Gambar 4-C).

Nilai pH awal selada segar sekitar 7,3 setelah penyimpanan selama 10 hari, pHnya menurun menjadi 7,0. Namun demikian inokulasi PAF-11 pada selada sampai dengan populasi  $10^7$  CFU/g dapat menurunkan pH selada selama penyimpanan sampai dengan nilai 6,8, walaupun dari Gambar 4-B nampak bahwa pertumbuhan bakteri ini tidak nampak nyata, atau dengan kata lain jumlahnya konstan. Sehingga diduga bahwa proses metabolisme pada bakteri PAF-11 tetap berlangsung selama penyimpanan.

Selada yang disimpan pada suhu 4°C ternyata tidak memberikan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan coliform, *staphylococcus*, BAL ataupun yeast-mold. Dari Gambar 5 nampak hanya bakteri psikrofilik saja yang nampak mampu tumbuh dengan baik dengan peningkatan 1-2 *log cycle*. Dari perubahan nilai pH juga tampak tidak adanya perubahan pH yang mencolok pada selada yang disimpan pada suhu 4°C.

Dari keseluruhan data dapat disimpulkan bahwa PAF-11 yang diinokulasikan pada selada tidak memiliki peranan penting di dalam menghambat pertumbuhan coliform ataupun *staphylococcus* baik yang secara alami terdapat pada sayuran ini ataupun bakteri uji yang ditambahkan.

Takeuchi dan Frank (2000) menyebutkan bahwa sel bakteri pada umumnya menempel dan melakukan penetrasi pada jaringan lewat permukaan daun yang rusak atau pada bekas potongan daun, dan selanjutnya berkembang biak. Pencucian menggunakan larutan 200 ppm klorin ternyata hanya dapat menurunkan populasi patogenik *E. coli* yang diinokulasikan pada selada 1 *log cycle*. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Beuchat dkk (1998) bahwa populasi mikrobia pada sayuran maksimum hanya dapat diturunkan sampai dengan 2 *log cycle*. Oleh karena proses dekontaminasi baik melalui biokontrol maupun pencucian menggunakan disinfektan kurang efektif, maka perlu dilakukan penanganan yang lebih baik untuk mengurangi kontaminasi terutama menjaga agar daun tidak mengalami kerusakan fisik.

## Wortel

Hasil perlakuan wortel dengan agensia biokontrol *P. acidilactici* F-11 dan kemampuan bakteri ini untuk menghambat bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* disajikan pada Gambar 6 (penyimpanan pada suhu 10°C), dan Gambar 7 (penyimpanan pada suhu 4°C). Dari hasil nampak bahwa *P. acidilactici* F-11 mampu menekan pertumbuhan *Staphylococcus* yang terdapat secara alami pada wortel baik yang disimpan pada suhu 10 dan 4°C (Gambar 6-B dan 7-B). Bakteri ini juga menghambat coliform namun penghambatan terhadap kelompok bakteri ini tidak seefektif terhadap Gram positif *S. aureus*. *Pediococcus acidilactici* F-11 (yang selama penyimpanan meningkat jumlahnya sekitar 2 *log cycle*, pada suhu 10°C dan 1 *log cycle* pada suhu 4°C) ternyata juga mampu menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang diinokulasikan pada wortel, hal yang sama daya hambat bakteri ini juga lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus* daripada *E. coli* yang diinokulasikan pada wortel (Gambar 6-C dan 7-C).

Perubahan pH pada wortel yang disimpan pada suhu rendah adalah sebagai berikut, pH wortel yang 5,8 setelah disimpan pada suhu 10°C turun menjadi 5 untuk yang tidak diinokulasi dengan PAF-11 sedang yang diinokulasi menjadi 4,6. Hal yang sama dijumpai pada wortel yang disimpan pada suhu 4°C. Seperti dijumpai pada paprika, wortel yang berasa manis memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi, yaitu 6.6 % (Howard *et al.*, 1962), demikian pula bentuknya yang merupakan irisan tipis-tipis memudahkan nutrisi yang terdapat pada wortel digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal yang sama juga disampaikan oleh Guinebretiere dkk (2000) bahwa efisiensi penggunaan agensia biokontrol tergantung dari nutrisi yang tersedia untuk mendukung pertumbuhan sel biokontrol.

PAF-11 yang diinokulasikan pada wortel sampai mencapai  $10^7$  CFU/g meningkat lebih besar dari 2 *log cycle*, kondisi ini dapat menurunkan pH yang cukup tajam mencapai 4.6 pada penyimpanan 10°C, sedang pada penyimpanan suhu 4°C, populasi BAL yang meningkat 1 *log cycle* hanya menurunkan pH sekitar 5.2. Dibanding dengan paprika dan selada, penurunan pH ini merupakan penurunan yang paling tajam.

## Populasi yeast

Dari hasil survei yang disajikan pada Gambar 1, populasi yeast pada berbagai sayuran yang disurvei yaitu selada, paprika, wortel, tomat, dan bawang bombay adalah cukup rendah, yaitu  $10^3$  CFU/g, dibandingkan dengan populasi bakteri. Selama penyimpanan dingin populasi yeast pada sayuran yang diuji (paprika, selada, dan wortel) pada umumnya hanya meningkat satu *log cycle*, sehingga diperkirakan kurang berperan di dalam proses kerusakan. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Babic, dkk (1992), bahwa yeast kurang berperan di dalam kerusakan wortel iris yang disimpan dingin, dibandingkan dengan bakteri.

### Aktivitas bakteriosin

Pada percobaan ini aktivitas bakteriosin PAF-11 diketahui positif pada paprika dan wortel yang diinokulasi dengan PAF-11 dan disimpan pada suhu 10 °C, di lain pihak sayuran yang sama yang disimpan pada suhu 4 °C, tidak terdeteksi adanya aktivitas bakteriosin. Diduga bahwa meningkatnya populasi PAF-11 pada paprika dan wortel yang disimpan suhu 10 °C diikuti dengan adanya produksi bakteriosin, sedangkan populasi PAF-11 yang konstan pada sayuran yang disimpan suhu 4 °C tidak membebaskan bakteriosin. Terdapatnya bakteriosin sejalan dengan kemampuan PAF-11 ini di dalam menghambat bakteri-bakteri lain. Sehingga diperkirakan bahwa daya hambat terhadap coliform, *E. coli* dan khususnya *Staphylococcus* berasal dari kompetisi nutrisi maupun bakteriosin yang dihasilkan oleh agensia biokontrol.

### KESIMPULAN

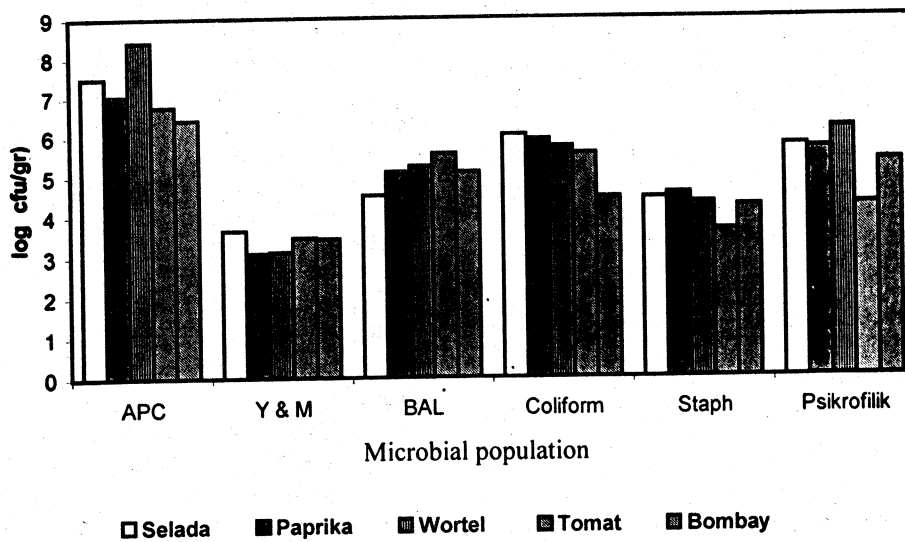
*Pediococcus acidilactici* F-11 dapat digunakan sebagai agensia biokontrol pada paprika dan wortel. Kemampuan PAF-11 dalam menghambat pertumbuhan coliform, *E. coli* ataupun *S. aureus* disebabkan oleh adanya kompetisi pertumbuhan pada sayuran segar dan bakteriosin yang dihasilkan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang didanai oleh HIBAH X, Tahun 2002. Kepada DIKTI sebagai pemberi dana diucapkan terima kasih

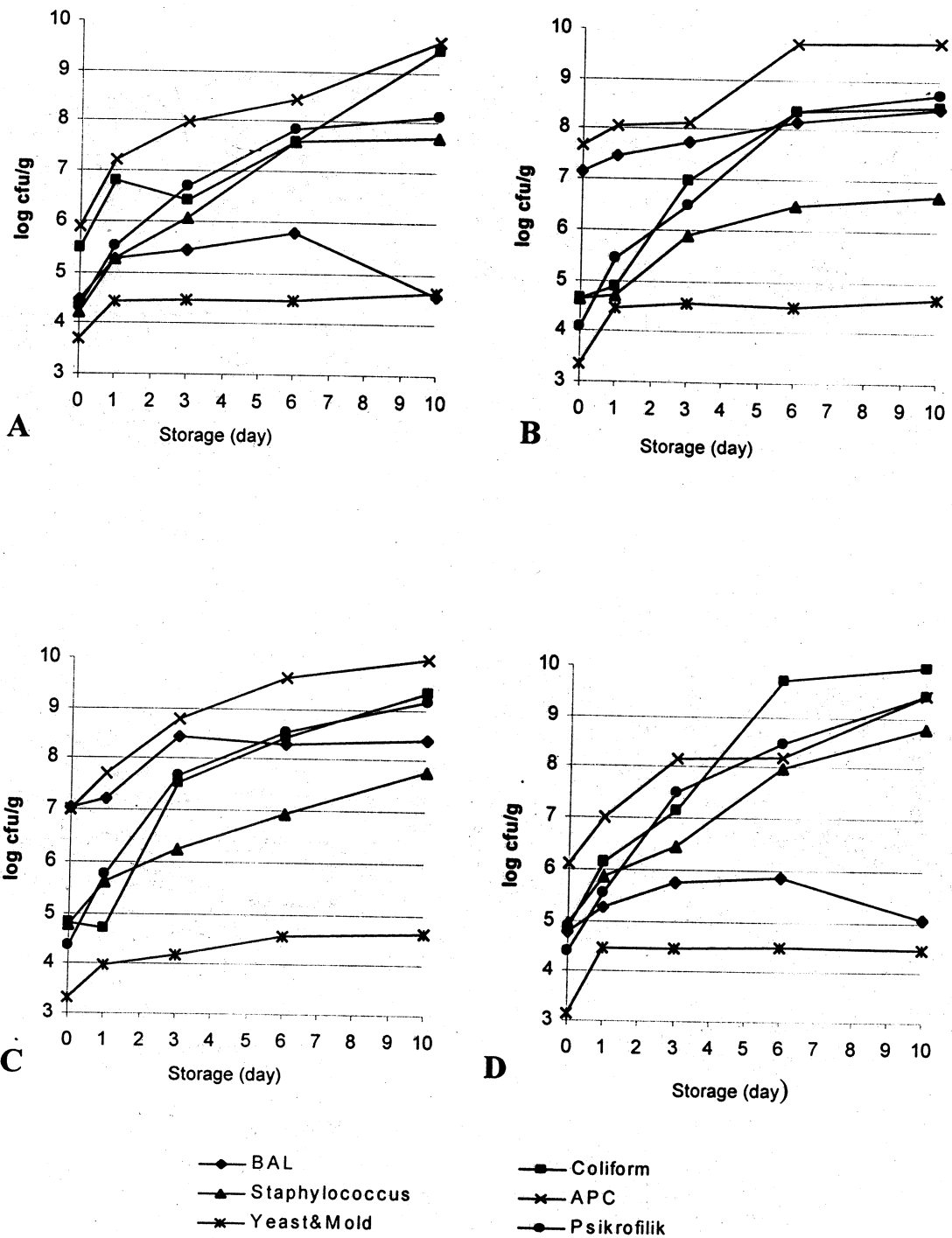
### DAFTAR PUSTAKA

- Babic, I., Hilbert, G., Nguyen-The, C., dan Guiraud, J. 1992. The yeast of stored ready-to-use carrots and their role in spoilage. *Int'l J. Food Sci. and Tech.* 27 : 473-484.
- Biswass, S.R., Ray, P., Johnson, M.C., dan Ray, B. 1991. Influence of growth condition on the production of a bacteriocin, Pediocin Ach, by *Pediococcus acidilactici* H. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (4) : 1265-1267.
- Beuchat, L.R., Nah, B.V., Adler, B.B., dan Clavero, M.R.S. 1998. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. *J. Food Prot.* 61 (10) : 1305-1311.
- Beuchat, L.R., Farber, J.M., Garrett, E.H., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V., dan Busta, F.F. 2001. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *J. Food Prot.* 64 (7) : 1079-1084.
- Breidt, F.B. dan Fleming, H.P. 1997. Using lactic acid bacteria to improve the safety of minimally processed fruits and vegetables. *Food Tech.* 51 (9) : 44-51.
- Brocklehurst, T.F., Zaman-Wong, C.M., dan Lund, B.M. 1987. A note on the microbiology of retail packs of prepared salad vegetables. *J. Appl. Bacteriol.* 63 : 409-415.
- Garcia-Gimeno, R.M., Zurera-Cosano, G., dan Amaro-Lopez, M. 1996. *J. Food Safety* 16 : 75-86.
- Gilliland, S. E. dan Speck, M. L., 1975. Inhibition of Psychrotrophic Bacteria by *Lactobacilli* and *Pediococci* in Nonfermented Refrigerated Foods. *J. Food Sci.* 40 : 903-905.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). 1998. *Microorganisms in Foods 6: Microbial ecology of food commodities.* Blackie Academic & Professional, London.
- Nguyen-the, C. dan Carlin, F., 1994. The microbiology of Minimally Processed Fresh Fruit and Vegetables, *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 34 : 371-401.
- Lund, B.M. 1992. Ecosystem in vegetable foods. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Supp.* 73 : 115S – 126S.
- Nugroho, D.A. dan Rahayu, E.S. 2003. Ekstraksi dan karakterisasi bakteriosin yang dihasilkan oleh *Leuconostoc mesenteroides* SM 22. *Journal Teknologi dan Industri Pangan* 14 (3) : 214-218
- Raccach, M., Baker, R.C., Regenstein, J.M., dan Mulnix, E.J. 1979. Potential application on microbial antagonisms to extended storage stability of flesh type food. *J. Food Sci.* 44 : 43-46.
- Takeuchi, K. dan Frank, J.F. 2000. Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *J. Food Prot.* 63 (4) : 434-440
- Vescoso, M. Torriani, S., Orsi, C., Macchiarloli, F., dan Scolari, G. 1996. Application of antimicrobial-producing lactic acid bacteria to control pathogens in ready-use vegetables. *J. Appl. Bacteriol.* 81 : 113-119.



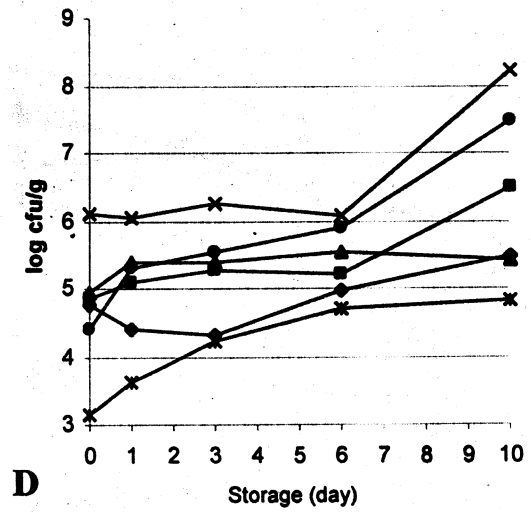
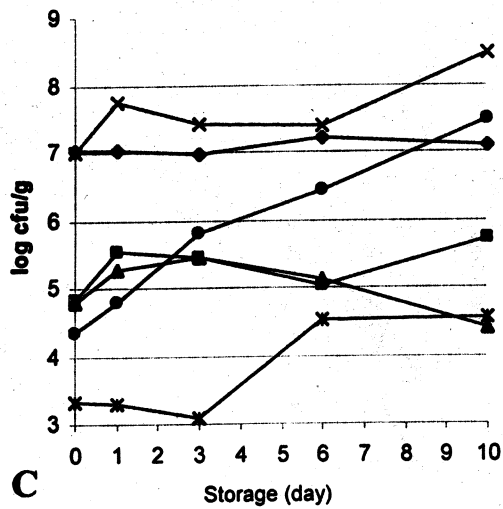
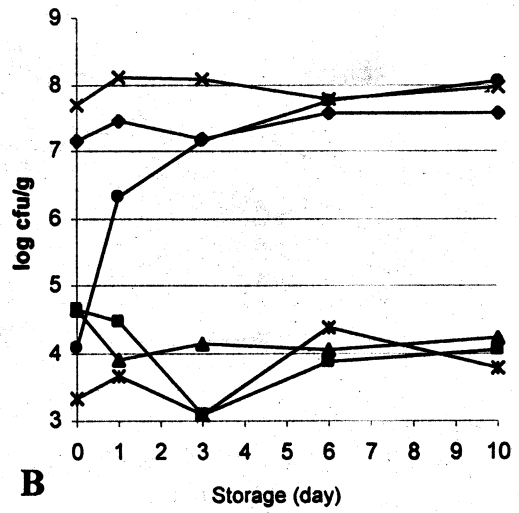
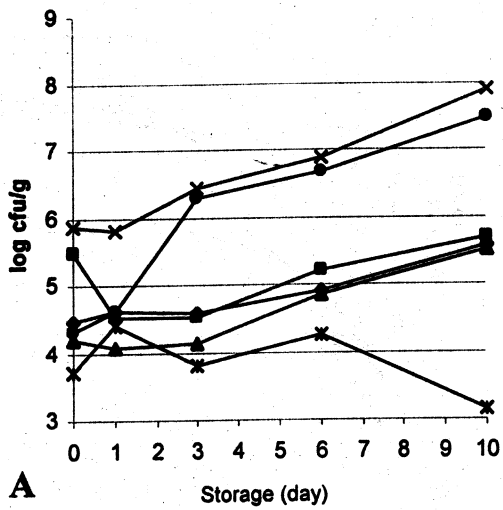
Note : APC – Aerobic Plate Count; Y&M – Yeast and mold; BAL – Lactic Acid bacteria;  
 Staph – Staphylococci  
*Selada* – lettuce, *Wortel* – carrot; *Tomat* – tomato; *Bombay* – Onion

Figure 1. Microbial population of fresh vegetables of salad ingredient



(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

Figure 2. Microbial population of paprika, at refrigerated temperature (10°C)

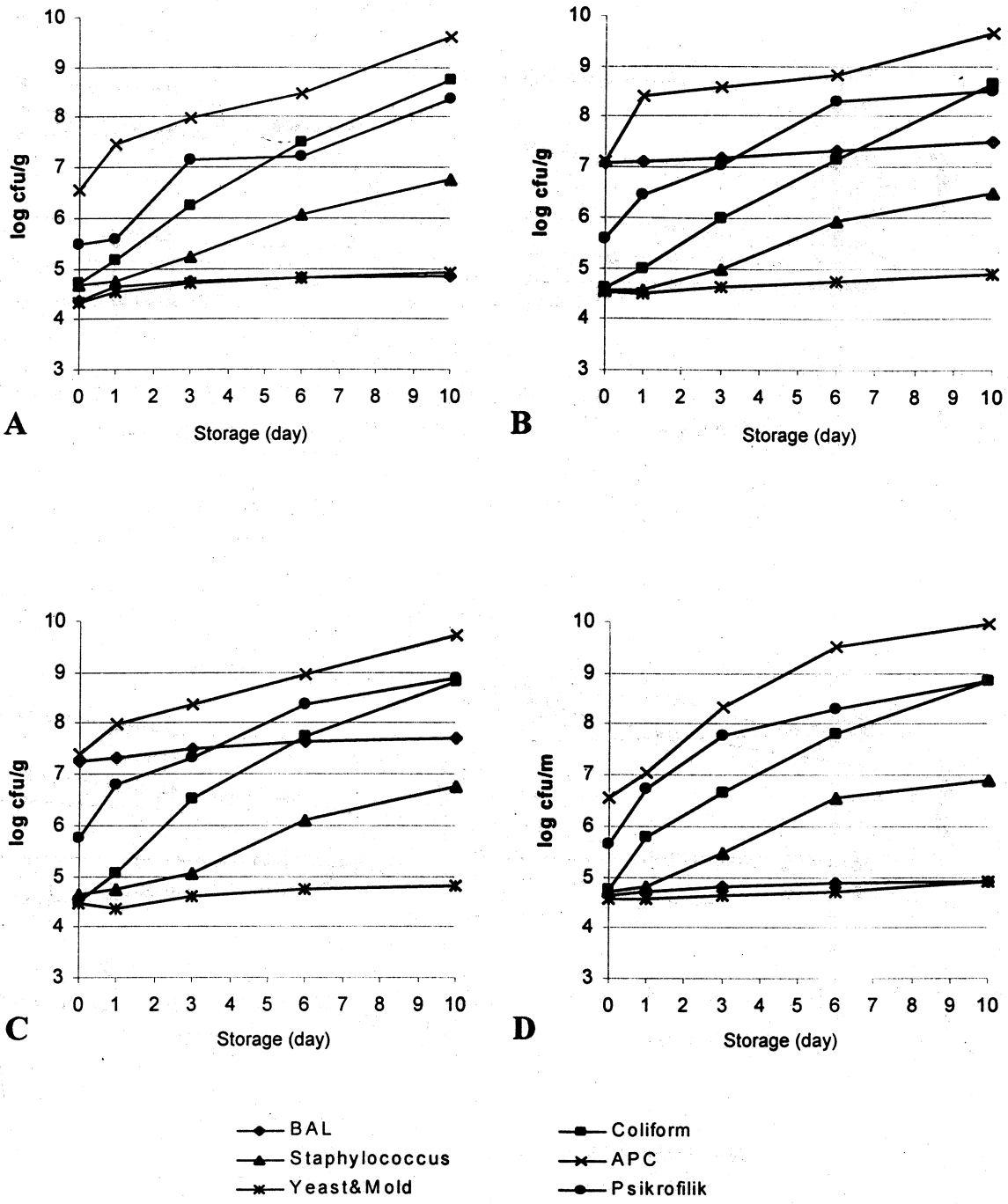


◆ BAL  
 ▲ Staphylococcus  
 ✖ Yeast & Mold  
 ■ Coliform  
 ✖ APC  
 ● Psikrofilik

(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

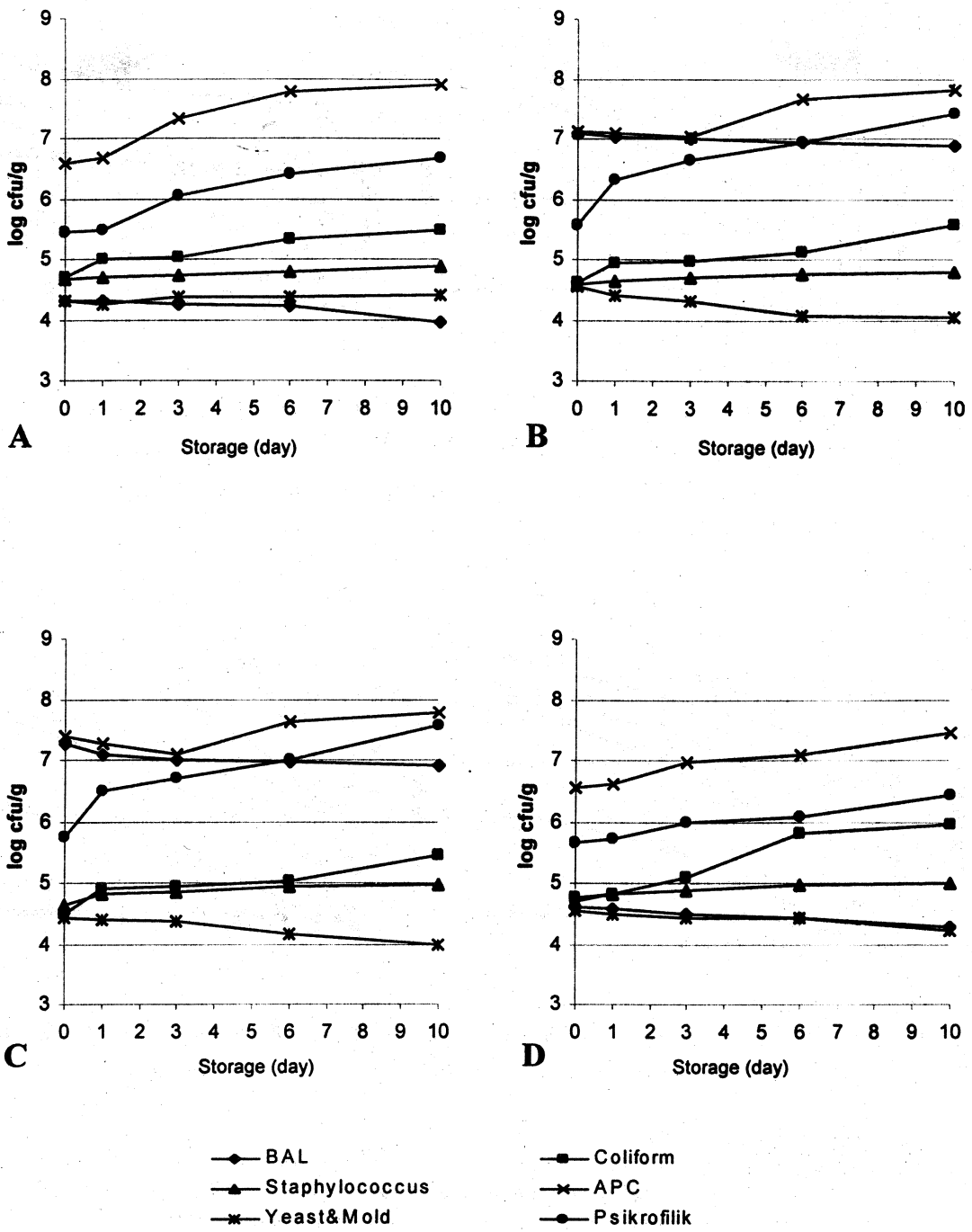
Figure 3. Microbial population of paprika, at refrigerated temperature (4°C)





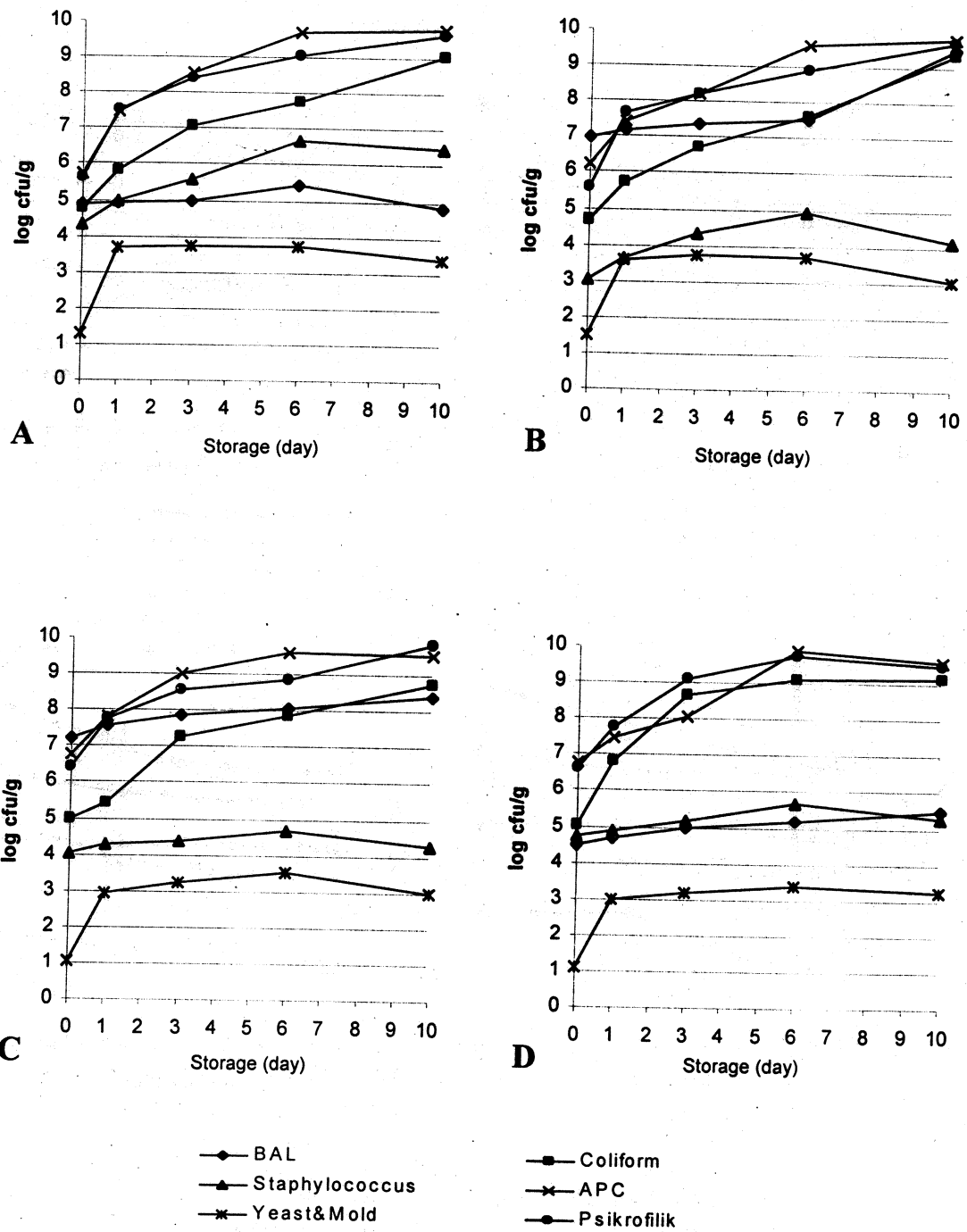
(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

Figure 4. Microbial population of lettuce, at refrigerated temperature (10°C)



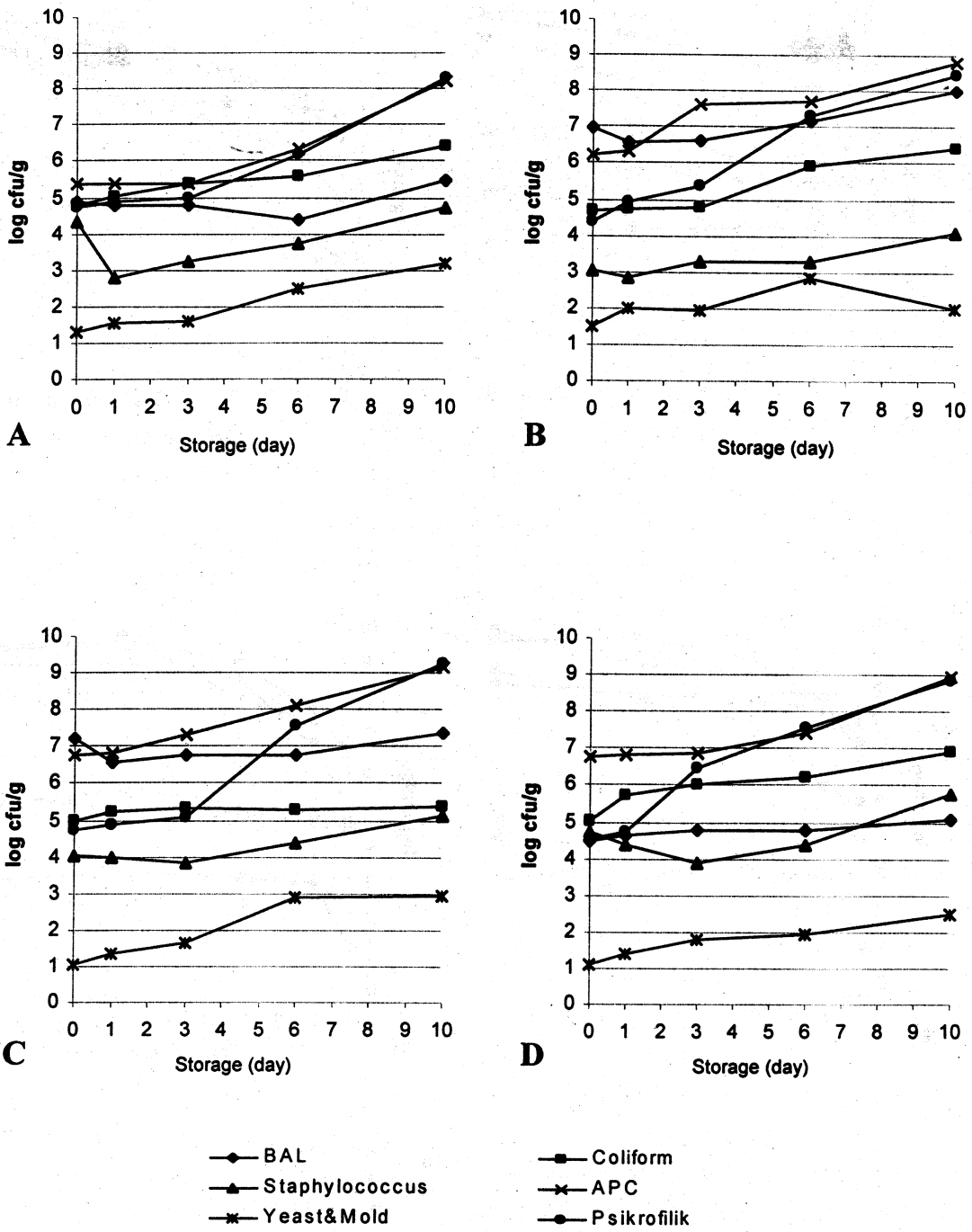
(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

Figure 5. Microbial population of lettuce, at refrigerated temperature (4°C)



(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

Figure 6. Microbial population of carrots, at refrigerated temperature (10°C)



(A) Control; (B) Inoculated with PA;  
 (C) Inoculated with PA, EC, SA; (D) Inoculated with EC dan SA  
 (PA = *P. acidilactici*, EC = *E. coli*; SA = *S. aureus*)

Figure 7. Microbial population of carrots, at refrigerated temperature (4°C)