

## PERANAN BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM MENGHAMBAT *Listeria monocytogenes* PADA BAHAN PANGAN

Netty Kusumawati \*)

### Abstrak

Bakteri asam laktat telah digunakan secara luas sebagai pengawet hayati (*biopreservatives*) untuk menekan dan menghilangkan bakteri patogen dan pembusuk dalam bahan pangan. Kemampuan sebagai pengawet hayati tersebut dihasilkan oleh senyawa-senyawa yang diproduksi bakteri asam laktat yang bersifat antimikrobia terutama bakteriosin, asam-asam organik, dan hidrogen peroksida. Peranan bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan sebagai antimikrobia yang banyak diteliti, diantaranya adalah terhadap *Listeria monocytogenes* yang merupakan salah satu bakteri patogen yang sangat potensial menyebabkan keracunan pangan karena mampu tumbuh pada berbagai bahan pangan dan dapat bertahan pada penyimpanan beku. Aplikasi bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan untuk menghambat dan mematikan *L. monocytogenes* telah dilakukan pada berbagai bahan pangan yaitu pada daging ternak dan unggas, sosis, ikan dan pangan asal laut, telur, susu, keju dan sayuran. Penerapan bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan sebagai antimikrobia diharapkan dapat meningkatkan keamanan pangan.

### PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat dari sumber karbohidrat yang dapat difermentasi (Salminen dan Wright, 1993). Dalam industri pangan bakteri asam laktat telah digunakan secara luas sebagai kultur starter untuk berbagai ragam fermentasi daging, susu, sayuran dan rerotian atau bakeri. Semula peranannya terutama adalah untuk memperbaiki citarasa produk fermentasi. Tetapi ternyata bakteri asam laktat ini juga mempunyai efek pengawetan pada produk yang dihasilkan, sehingga sekarang berkembang penerapan bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkan dengan tujuan utama untuk pengawetan pangan baik terhadap produk fermentasi maupun non-fermentasi.

Bakteri asam laktat mempunyai efek pengawetan karena menghasilkan senyawa-senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan berbagai mikroba. Sebagian besar efek antimikroba ini disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam asetat serta penurunan pH yang dihasilkan. Selain itu bakteri asam laktat juga menghasilkan senyawa-senyawa penghambat lain seperti hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, reuterin dan bakteriosin (De Vuyst dan Vandamme, 1994). Telah diteliti efek penghambatan bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan terhadap beberapa bakteri pembusuk dan patogen yang banyak mencemari bahan pangan. Diantaranya yang banyak dilakukan adalah penelitian efek penghambatan bakteri asam laktat terhadap *Listeria monocytogenes*.

Pada dekade terakhir ini *L. monocytogenes* merupakan bakteri patogen penyebab keracunan pangan yang berpengaruh sangat kuat pada industri pangan. Telah dilaporkan terjadinya beberapa kasus keracunan dan *outbreak* akibat konsumsi bahan pangan yang mengandung *L. monocytogenes*, membuktikan bahwa bakteri tersebut berpotensi

---

\*) Staf Pengajar Tetap Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

sebagai penyebab keracunan pangan yang merupakan ancaman serius bagi kesehatan. Potensi *L. monocytogenes* untuk menyebabkan keracunan pangan juga didukung oleh kemampuannya untuk tumbuh pada suhu penyimpanan dingin (refrigerasi) dan bahkan mampu bertahan pada suhu penyimpanan beku.

Dalam tulisan ini akan diuraikan karakteristik *L. monocytogenes* dan keterlibatannya dalam menyebabkan penyakit yang ditularkan lewat makanan serta peranan bakteri asam laktat dalam menghambat *L. monocytogenes* yang meliputi berbagai senyawa yang berperan dalam penghambatan serta aplikasinya dalam bahan pangan.

### *Listeria monocytogenes*

#### Karakteristik Umum

*L. monocytogenes* termasuk dalam genus *Listeria* yang mempunyai kekerabatan dekat dengan *Bacillus*, *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Dari data sekuen 16S rRNA, *Listeria* mempunyai kemiripan dengan *Brochotrix*, dan kedua genus tersebut bersama dengan *Staphylococcus* dan *Kurthia* berada diantara grup *Bacillus* dan grup *Lactobacillus*/*Streptococcus* di dalam cabang taksonomi *Clostridium-Lactobacillus-Bacillus*. Semua anggota dalam cabang taksonomi tersebut mempunyai % mol G+C kurang dari 50.

*L. monocytogenes* adalah bakteri gram positif, tidak berspora, anaerob fakultatif, berbentuk batang pendek dan ujung bulat dengan panjang sel 6-20  $\mu\text{m}$ . Sel-sel yang masih muda tampak sebagai kokus (bulat). *L. monocytogenes* mempunyai flagela yang menyebabkan bersifat motil serta menunjukkan sifat dapat bergulung (*tumbling*) pada suhu 25°C, tetapi pada suhu 35°C tidak bersifat motil sebab terjadi kerusakan 1-6 flagela peritrikus yang bersifat dapat balik. Koloninya mempunyai kenampakan abu-abu kebiruan (Jay, 1997).

Pertumbuhan *L. monocytogenes* seperti juga bakteri yang lain dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan nutrisi medium pertumbuhannya, suhu, pH, aktivitas air ( $a_w$ ), dan potensial redoks.

*L. monocytogenes* tumbuh dengan baik pada beberapa media umum seperti brain heart infusion, trypticase soy dan tryptose broth. Namun berbeda dari bakteri gram positif lainnya, *L. monocytogenes* mampu tumbuh pada media MacConkey agar. Sedikitnya dibutuhkan empat jenis vitamin B untuk pertumbuhannya yaitu biotin, riboflavin, thiamin dan asam thiotic (a-asam lipoat; faktor tumbuh untuk beberapa bakteri dan protozoa), sedangkan asam-asam amino yang dibutuhkan adalah sistin, glutamin, isoleusin, leusin dan valin (Sneath *et al.*, 1986).

Secara umum, *L. monocytogenes* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,1 sampai 9,6 dengan pH optimum 6-8 (Jay, 1997). pH pertumbuhan minimum bakteri tersebut merupakan fungsi dari suhu inkubasi dan komposisi nutrisi tempat tumbuhnya.

Kisaran suhu pertumbuhan *L. monocytogenes* antara 1°C sampai 45°C dengan suhu optimum 30-37°C. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Juntilla *et al.* (1988), diketahui bahwa pada media trypticase agar, terdapat 78 strain *L. monocytogenes* yang mampu tumbuh pada kisaran suhu 0,5°C sampai 3,0°C selama 10 hari. *L. monocytogenes* juga mampu bertahan dengan baik selama beberapa minggu pada suhu -18°C pada berbagai substrat bahan pangan. Bakteri tersebut juga hanya mengalami sedikit penurunan viabilitas pada penyimpanan beku (-18°C sampai -198°C) selama 1 bulan. Ketahanan *L. monocytogenes* pada suhu tinggi hampir sama dengan sel vegetatif bakteri gram positif lainnya. Pada jumlah kurang dari 10<sup>5</sup> / ml bakteri tersebut tidak tahan pada perlakuan pasteurisasi susu komersial normal (71°C selama 15 detik).

*L. monocytogenes* tumbuh pada aktivitas air ( $a_w$ ) berkisar antara 0,90 sampai 0,93. Kemampuan tumbuh pada  $a_w$  yang berbeda tersebut dipengaruhi oleh humektan yang terdapat pada media. Kondisi gas atmosfer sedikit pengaruhnya terhadap pertumbuhan *L. monocytogenes*. Tingkat CO<sub>2</sub> yang tinggi juga terbukti tidak berefek menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

## Patogenisitas dan Insiden Listeriosis

Penyakit yang diakibatkan oleh *Listeria* disebut listeriosis. *L. monocytogenes* merupakan spesies yang paling dominan menyebabkan listeriosis pada manusia. Listeriosis pada manusia tidak ditandai dengan serangkaian gejala yang unik karena penyakit yang timbul tergantung dari status atau kondisi pertahanan tubuh inangnya. Wanita hamil yang terkena penyakit ini mungkin tidak menunjukkan gejala atau jika ada hanya seperti gejala influenza ringan. Tetapi akibat yang bisa timbul jika wanita hamil mengalami listeriosis adalah keguguran, bayinya lahir prematur atau lahir mati (*stillbirth*). Jika bayi yang baru lahir terinfeksi pada saat persalinan, gejala listeriosis umumnya adalah meningitis yang dimulai pada saat bayi berusia 1 sampai 4 minggu.

Kelompok orang yang mempunyai pertahanan tubuh tertekan (penderita AIDS, pecandu alkohol, penderita diabetes, penyakit jantung, orang yang baru mengalami pembedahan dan yang sedang mengalami terapi corticosteroid) rentan terhadap listeriosis dengan angka kematian yang cukup signifikan. Gejala listeriosis yang sering muncul pada kelompok yang rentan adalah meningitis dan sepsis. Dari 641 kasus listeriosis pada manusia, sebanyak 73% menderita meningitis, meningoencephalitis, atau encephalitis. Gejala lain yang berhubungan adalah cervical dan lymphadenopathy, dan penyakit ini mungkin mengakibatkan infeksi mononukleosis. Cairan cerebrospinal mengandung granulosit tetapi dalam keadaan infeksi lanjut monosit yang dominan (Jay, 1997). Umumnya waktu inkubasi kasus listeriosis pada orang dewasa adalah satu sampai beberapa minggu.

Insiden *food borne listeriosis* ditemukan pada bermacam-macam bahan pangan. Telah dilaporkan beberapa kasus *food borne listeriosis* seperti tercantum pada Tabel 1.

## BAKTERI ASAM LAKTAT

### Karakteristik dan Klasifikasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat bersifat gram positif, tidak membentuk spora, dapat berbentuk bulat atau batang, dengan komposisi basa DNA kurang dari 50% mol G+C. Umumnya bersifat katalase

negatif tetapi kadang-kadang terdeteksi katalase semu pada kultur yang ditumbuhkan pada konsentrasi gula rendah. Untuk tumbuh membutuhkan karbohidrat yang dapat difermentasi (Pot *et al.*, 1994).

Semula bakteri asam laktat diklasifikasikan menjadi empat kelas yaitu genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*. Klasifikasi tersebut lebih didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan untuk tumbuh pada suhu yang berbeda, sifat stereospesifik (D atau L laktik), serta toleransi terhadap asam dan basa. Klasifikasi bakteri asam laktat berkembang sehingga genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*. Sedangkan genus *Streptococcus* menjadi empat yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, dan *Enterococcus*. Genus *Pediococcus* menjadi *Pedicoccus*, *Tetragenococcus* dan *Aerococcus*. Untuk genus *Leuconostoc* tetap. Klasifikasi yang baru tersebut dihasilkan dengan mempertimbangkan komposisi asam lemak pada membran sel, motilitas dan urutan r RNA, serta persen guanin dan sitosin pada DNA (Pot *et al.*, 1994).

### Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan Bakteri Asam Laktat

Beberapa senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat bersifat antimikroba diantaranya adalah asam-asam organik, hidrogen peroksida, reuterin dan bakteriosin.

### Asam-asam Organik

Akumulasi produk akhir asam dan turunnya pH menyebabkan penghambatan yang luas terhadap bakteri baik gram positif maupun negatif. Nilai pH rendah yang dicapai, konstanta disosiasi dan konsentrasi asam menentukan aktivitas penghambatan dari asam yang dihasilkan. Asam-asam lipofilik seperti asam laktat dan asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi, berdisosiasi menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu fungsi metabolik esensial seperti translokasi substrat dan fosforilasi oksidatif, dengan demikian mereduksi pH intraseluler (Baird dan Parker, 1980).

Tabel 1. Kasus-kasus *Food Borne Listeriosis*

Tahun	Sumber	Jumlah kasus / korban jiwa	Lokasi
1966	Susu/ olahan susu	279/109	Jerman
1980	Shellfish (kerang)	22/6	Selandia baru
1981	Coleslaw	41/18	Kanada
1985	Keju tipe Mexican	142/48	California
1987-1989	Pate	366/63	Inggris
1990	Pate	11/6	Australia
1992	Lidah babi dalam jeli	279/85	Perancis
1993	Pork rilletes	39/0	Perancis
1994	Susu coklat	52/0	Amerika
1995	Keju brie	17/0	Perancis

Dikutip dari Jay (1997)

### **Hidrogen Peroksida**

Bakteri asam laktat menghasilkan hidrogen peroksida dengan adanya oksigen. Pembentukan hidrogen peroksida dikatalisis oleh flavoprotein sitoplasmik (FAD) NADH oksidase yang sangat aktif dengan tujuan untuk menghilangkan kelebihan elektron dari NADH sehingga berkompetisi dengan laktat dehidrogenase untuk NADH (terbentuk selama pemecahan glukosa) tetapi tanpa produksi ATP (Condon, 1987).

Efek antimikroba dari hidrogen peroksida adalah terjadinya keracunan hiperbarik akibat peroksidasi lemak membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel. Efek bakterisidal yang dihasilkan dari metabolit oksigen ini disertai tidak hanya efek mengoksidasi yang kuat terhadap sel-sel bakteri tetapi juga destruksi struktur molekuler dasar dari asam nukleat dan protein sel (Dahl *et al.*, 1989).

Hidrogen peroksida selain menghambat mikroorganisme dengan mekanisme di atas juga mampu bereaksi dengan senyawa lain membentuk senyawa yang mempunyai efek antimikroba yang disebut sistem laktoperoksidase (sistem LP). Dalam susu mentah tiosianat (SCN<sup>-</sup>) pada konsentrasi 1-10 ppm dioksidasi oleh enzim laktoperoksidase dengan adanya hidrogen peroksida pada konsentrasi sekitar 10 mmol/L menjadi senyawa antibakteri yaitu hipotiosianat (OSCN<sup>-</sup>) (Reiter dan Harnulv, 1984). Hipotiosianat bersifat antimikroba sebab mengganggu enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri yang menyebabkan kematian.

### **Reuterin**

Reuterin dihasilkan oleh *Lactobacillus reuterii* yang terdapat dalam alat pencernaan manusia dan hewan. Berat molekul reuterin adalah kurang dari 200 Da dan tahan terhadap aktivitas protease dengan demikian tidak disebut bakteriosin. Reuterin merupakan campuran dengan komposisi berimbang dari monomer hidrat dan dimer siklik dari b-hidroksipropionaldehida yang terbentuk selama metabolisme anaerobik gliserol dan gliseraldehida (Talarico *et al.*, 1988; Talarico dan Dobrogosz, 1989).

Reuterin adalah senyawa antimikroba yang mempunyai spektrum yang luas yang efektif terhadap bakteri gram negatif, khamir, kapang dan protozoa. Senyawa ini menghambat enzim-enzim sulfhidril seperti ribonukleotida reduktase, suatu enzim yang terlibat dalam biosintesa DNA (Talarico dan Dobrogosz, 1989).

### **Bakteriosin**

Bakteriosin didefinisikan sebagai protein dengan efek antagonistik intraspesifik atau yang memiliki aktivitas sebagai bakterisidal dengan spektrum aktivitas yang lebih rendah bila dibanding dengan antibiotik (Daeschel, 1985). Bakteriosin adalah senyawa protein, oleh karenanya disintesis melalui mekanisme biosintesis protein ribosom umum yang melibatkan transkripsi dan tranlasi. Bakteriosin disandi baik oleh DNA kromosom maupun plasmid (De Vuyst dan Vandamme, 1994).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat berupa protein atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein dan lain-lain) yang aktif secara hayati berefek bakterisidal khususnya terhadap bakteri gram positif dan yang berkerabat dekat dengan spesies bakteri penghasilnya. Bakteriosin merupakan suatu kelompok yang heterogen dengan berat molekul, sifat-sifat fisik, kimia, sensitivitas, spektrum aktivitas antimikroba serta cara kerja yang bervariasi (De Vuyst dan Vandamme, 1994).

Hipotesis cara kerja bakteriosin yang sudah diterima secara luas adalah bahwa bakteriosin bekerja dalam dua tahap yang melibatkan adsorpsi bakteriosin pada reseptor spesifik atau non spesifik pada permukaan sel yang menghasilkan kematian sel. Target utama dari bakteriosin yang diproduksi bakteri asam laktat kemungkinan besar adalah membran sitoplasma, karena bakteriosin memulai reaksi-reaksi yang mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transpor membran atau menghilangkan tenaga gerak proton yang mengakibatkan terhambatnya produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat (Nissen-Meyer, 1992).

Pada penelitian yang lebih lanjut diketahui bahwa bakteriosin menghambat aktivitas PEP:PTS (phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase) glukosa pada *L. monocytogenes* dengan menginduksi keluarnya metabolit intraseluler dari dalam sel (Waite dan Hutkins, 1998).

### **Bakteriosin yang Memiliki Aktivitas Antilisteria**

Diantara senyawa-senyawa antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, akhir-akhir ini bakteriosin paling banyak diterapkan sebagai antimikrobia pada bahan pangan. Hal itu disebabkan karena sifatnya yang cukup efektif dalam menghambat dan mematikan sejumlah bakteri patogen yang sering mencemari bahan pangan. Selain itu bakteriosin juga mampu diproduksi dan memiliki aktivitas yang cukup tinggi pada suhu rendah sehingga bisa bekerja sinergis dengan perlakuan penyimpanan suhu rendah untuk meningkatkan keamanan pangan terhadap bakteri patogen terutama yang tahan pada suhu rendah

seperti *L. monocytogenes*. Kelebihan bakteriosin lainnya adalah memberikan efek antimikrobia tanpa menimbulkan perubahan citarasa dan kenampakan yang nyata pada produk yang dihasilkan sehingga lebih luas kemungkinan aplikasinya.

Sejumlah bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat yang berasal dari bahan pangan telah diisolasi dan diketahui memiliki efek antimikrobia terhadap *L. monocytogenes*, diantaranya adalah : **nisin** yang dihasilkan oleh *Lactococcus lactis*; **plantaricin UG1** dari *L. plantarum* yang diisolasi dari sosis kering dan **plantaricin D** dari strain *L. plantarum* BFE 905 yang diisolasi dari salad sayuran (Enan *et al.*, 1996 ; Franz *et al.*, 1998); **thermophilin 347**, yang diproduksi oleh *Streptococcus thermophilus* 347 yang diisolasi dari yoghurt (Villani *et al.*, 1995); **acidocin A** yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* TK9201 (Kanatani *et al.*, 1995); **bavaricin A** dari *Lactobacillus bavaricus* MI401 yang diisolasi dari adonan asam (Larsen *et al.*, 1993) dan **bavaricin MN** yang dihasilkan *Lactobacillus sake* MN (Kaiser dan Montville, 1996); **pediocin JD** dari strain *Pediococcus acidilactici* JD1-23 (Christensen dan Hutkins, 1992); **enterocin 226NWC** yang diproduksi oleh *Enterococcus faecalis* 226 yang diisolasi dari kultur whey yang digunakan sebagai starter pada pembuatan keju Mozzarella dari susu kerbau (Villani *et al.*, 1993); **divercin** dan **piscicocin** yang diproduksi oleh strain *Carnobacterium* dari produk olahan ikan, (Pilet *et al.*, 1995).

### **APLIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN SENYAWA YANG DIHASILKAN UNTUK MENGHAMBAT *L. monocytogenes* DALAM BAHAN PANGAN**

Telah dilakukan sejumlah penelitian tentang aplikasi bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkannya pada produk pangan, untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri patogen *L. monocytogenes*, sehingga meningkatkan keamanan bahan pangan tersebut. Penelitian tentang aplikasi bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan sebagai antilisteria pada bahan

pangan telah dilakukan baik terhadap bahan pangan segar maupun olahan dan pada produk hewani maupun nabati, dan bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkan tersebut diaplikasikan sendiri maupun secara kombinasi dengan perlakuan lain. Beberapa penelitian aplikasi bakteri asam laktat/senyawa yang dihasilkan sebagai antilisteria pada bahan pangan adalah sebagai berikut.

### Aplikasi pada Daging Ternak dan Unggas

Winkowski dan Montville (1992) berhasil melakukan isolasi *Lactobacillus bavaricus* MN dari produk daging yang menunjukkan efek antagonistik terhadap *L. monocytogenes* pada daging sapi. Strain tersebut menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* Scott A yang diinokulasi pada produk daging dalam larutan (*beef gravy*) yang disimpan pada suhu 4°C. Penghambatan sudah tampak pada konsentrasi *Lb. bavaricus* 10<sup>3</sup> cfu/ml terhadap *L. monocytogenes* yang diinokulasikan dalam jumlah 10 kali lebih besar.

Strain lain yang juga menunjukkan efek antilisteria adalah lima strain *Lactobacillus sakei* (Bredholt *et al.* 1999). Kelima strain tersebut sebanyak 10<sup>-4</sup> sampai 10<sup>-5</sup> cfu/g menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* pada daging iris masak yang dikemas secara vakum maupun dengan gas dan disimpan pada suhu 8°C. Penghambatan bisa disebabkan oleh salah satu dari strain tersebut atau oleh beberapa strain yang bekerja secara sinergis. Pada produk tersebut sampai penyimpanan selama 21 hari tidak terjadi penyimpangan kualitas sensoris.

Selain ditambahkan dalam bentuk kultur bakteri, bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat juga banyak diteliti untuk diaplikasikan pada produk daging untuk memberikan efek antagonistik terhadap *L. monocytogenes*.

Efek antimikroba nisin dalam bentuk komersial (Nisaplin) telah diteliti oleh Mahadeo dan Tatini (1994) untuk menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* pada daging kalkun. Nisin ditambahkan ke dalam air panas yang digunakan untuk merendam daging kalkun. *L. monocytogenes* diberikan melalui dua cara yaitu pada air panas perendam kalkun, dan diberikan secara langsung pada kulit kalkun. Penambahan nisin menyebabkan

penurunan jumlah *L. monocytogenes* sebesar 1 log cfu/ml jika sel ditambahkan pada kulit kalkun, dan penurunan tersebut terus bertambah jika sampel disimpan pada suhu refrigerasi. Panas dari air pencuci menunjukkan efek sinergis dengan nisin, yang ditunjukkan dengan penurunan yang lebih besar yaitu log 2 setelah perendaman, jika sel *L. monocytogenes* diberikan pada air pencuci, dan setelah penyimpanan pada suhu refrigerasi selama 48 jam, sel *L. monocytogenes* secara total terbunuh dengan perlakuan tersebut.

Selain itu telah diteliti aktivitas penghambatan terhadap *L. monocytogenes* Lin11 oleh dua bakteriosin yaitu nisin dan pediocin AcH, pada daging babi mentah cincang yang disimpan secara aerobik pada suhu 5°C. Bakteriosin tersebut diaplikasikan pada tahap perendaman sebelum daging dicincang. Hasilnya adalah nisin lebih efisien daripada pediocin AcH, tetapi secara umum, setelah 2 hari penyimpanan, bakteri yang bertahan pada daging tumbuh dengan laju yang sama dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan perendaman dalam larutan yang mengandung bakteriosin. Lebih jauh diketahui bahwa bakteri yang mampu bertahan setelah diberi perlakuan nisin, menjadi lebih resisten terhadap bakteriosin tersebut, sedangkan yang mampu bertahan setelah diberi perlakuan pediocin AcH, tetap rentan. Dari pengamatan yang lebih jauh, diketahui bahwa hilangnya aktivitas bakteriosin terutama pada pediocin AcH disebabkan karena degradasi yang cepat oleh enzim protease pada daging babi terhadap bakteriosin tersebut. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa nisin lebih sesuai untuk diaplikasikan pada perendaman daging babi sebelum dicacah untuk menghambat *L. monocytogenes*, tetapi konsentrasi yang diberikan harus dipertimbangkan sebab jika masih ada bakteri yang mampu bertahan akan menjadi populasi baru yang lebih resisten bukan hanya terhadap nisin melainkan juga terhadap bakteriosin lainnya (Murray dan Richard, 1997).

Talaat-El-Khateib *et al.* (1993) meneliti efek antimikroba dari asam laktat, nisin dan pediocin terhadap *L. monocytogenes* pada daging sapi. Daging diiris berbentuk kubus (1cm<sup>3</sup>) kemudian diberikan asam laktat (2%), nisin (4x10<sup>4</sup> IU/ml)

dan pediocin ( $3,2 \times 10^3$  IU/ml). Daging yang sudah diberi perlakuan antimikroba direndam selama 1 menit dalam suspensi sel *L. monocytogenes*, kemudian disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Hasilnya adalah bahwa perlakuan penambahan asam laktat, nisin dan pediocin secara nyata menurunkan jumlah sel *L. monocytogenes*, berturut-turut sebesar log 1,7 ; 1,1 ; dan 0,6 cfu/ $6\text{cm}^2$  permukaan daging.

Nisin secara kombinasi dengan sorbat juga memiliki efek antilisteria pada daging sapi yang disimpan suhu refrigerasi. Pada *beef steak* yang steril diinokulasi dengan 3 strain *L. monocytogenes* patogen yang bersifat hemolitik pada jumlah sekitar  $5 \log \text{cfu/cm}^2$  dan permukaan dari daging tersebut diperlakukan larutan antimikroba yang terdiri dari 1,0% sorbat ditambah dengan nisin sebanyak 1000 IU/ml. Kemudian daging dikemas vakum atau dengan 100%  $\text{CO}_2$  dan disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 4 minggu. Pada daging yang tidak ditambah dengan nisin dan sorbat, pertumbuhan *L. monocytogenes* mencapai 1,79 putaran log sedangkan pada daging yang dikemas dengan 100%  $\text{CO}_2$  populasi listeria turun sebesar 0,54 putaran log. Pada daging yang ditambah nisin dan sorbat, dengan pengemasan vakum jumlah *L. monocytogenes* turun sebanyak 96,5% dari jumlah yang diinokulasikan tetapi fase lag dari sel bakteri yang tertinggal tidak terpengaruh. Sedangkan pada daging yang ditambah nisin dan sorbat dan dikemas dengan 100%  $\text{CO}_2$  jumlah *L. monocytogenes* turun 89,3% dari jumlah semula dan fase lag dari bakteri yang tertinggal diperpanjang (Avery dan Buncic, 1997).

Kombinasi nisin dengan EDTA juga terbukti memiliki efek antagonis terhadap *L. monocytogenes* (Shanshan-Zhang dan Mustapha, 1999) pada daging sapi segar yang diiris bentuk kubus ( $2,5 \text{ cm}^3$ ). Daging diinokulasi dengan sekitar  $7 \log \text{cfu/ml}$  *L. monocytogenes* Scott A dan dicelupkan ke dalam larutan nisin atau nisin dikombinasikan dengan EDTA selama 10 menit. Kemudian sampel ditiriskan selama 15 menit dikemas vakum dan disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 30 hari. Pencelupan dalam larutan nisin menurunkan populasi *L. monocytogenes* sebesar  $2,01 \text{ cfu/cm}^2$  sedangkan kombinasi nisin dengan EDTA menurunkan sampai  $0,99 \text{ cfu/cm}^2$  setelah

penyimpanan selama 30 hari dibandingkan dengan kontrol yang tidak dicelup dengan larutan tersebut.

Efek antimikrobia juga diperoleh dengan mengaplikasikan bakteriosin pada film yang digunakan untuk mengemas produk daging (Xintain-Ming *et al.*, 1997). Bakteriosin dalam bentuk bubuk dihasilkan dari media berbasis susu dan diaplikasikan pada film pengemas. Bubuk pediocin diaplikasikan pada kantung pengemas plastik sebesar  $7,75 \text{ mg/cm}^2$ . Sampel daging sapi dan unggas diinokulasi dengan *L. monocytogenes* dan dimasukkan dalam kantung tersebut. Pertumbuhan *L. monocytogenes* terhambat secara total selama 12 minggu penyimpanan pada suhu  $4^\circ\text{C}$ .

### Aplikasi pada Sosis

Dosis infeksi minimal untuk listeriosis pada manusia belum jelas benar, sehingga sangat penting untuk mengendalikan adanya *L. monocytogenes* pada bahan pangan, terutama bahan pangan fermentasi ber- $a_w$  rendah seperti sosis, dimana *L. monocytogenes* dapat bertahan. Campanini *et al.* (1993) meneliti aktivitas antimikrobia dari bakteri asam laktat penghasil bakteriosin terhadap *L. monocytogenes* pada sosis salami Italia. Bakteri asam laktat yang digunakan adalah strain *Lb. plantarum* MCS1 penghasil bakteriosin dan mutan dari strain tersebut yang tidak menghasilkan bakteriosin, serta 2 kultur starter komersial. Kultur starter komersial tersebut yang satu mengandung campuran *Lactobacillus curvatus* and *Pediococcus pentosaceus* sedangkan lainnya mengandung *Lactobacillus* sp. yang tidak teridentifikasi. Sosis yang diuji mengandung NaCl 2,5%,  $\text{NO}_3$  250 mg/kg dan sukrosa 0,3%. Sedangkan *L. monocytogenes* yang diinokulasikan dari strain SSICA 38 dan 150 sebanyak  $10^3$  sampai  $10^4 \text{ cfu/g}$ . Sosis salami yang tidak mengandung bakteri asam laktat, pertumbuhan *L. monocytogenes* terdeteksi setelah 7-14 hari penyimpanan. Sedangkan yang mengandung bakteri asam laktat, jumlah *L. monocytogenes* berkurang selama proses pematangan salami, namun masih ada bakteri yang mampu bertahan sampai proses pematangan berakhir. Hanya pada salami yang ditambah *Lb. plantarum* MCS1 penghasil bakteriosin yang berhasil membunuh semua sel *L. monocytogenes*,

sehingga tidak terdeteksi adanya bakteri tersebut pada salami pada akhir pematangan.

Kombinasi perlakuan penambahan lysozym, nisin dan EDTA pada sosis bologna, juga menurunkan pertumbuhan *L. monocytogenes*. Sosis dibuat dengan menambahkan lysozym 500 mg/kg, nisin 1:3, dan EDTA 500 mg/kg, dan diinokulasi dengan bakteri pembusuk atau patogen, diantaranya adalah *L. monocytogenes*, kemudian dikemas vakum dan disimpan pada suhu 8°C selama 4 minggu. Perlakuan tersebut menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* sampai penyimpanan selama 2 minggu (Holley dan Gill, 2000).

### Aplikasi pada ikan dan bahan pangan asal laut

Bakteriosin merupakan senyawa utama yang mempunyai efek antimikrobia terhadap *L. monocytogenes* pada produk ikan atau bahan pangan asal laut. Kombinasi nisin dengan asam dehidroasetat yang diaplikasikan pada sayatan daging ikan catfish (*Ictalurus punctatus*) juga menghambat dan mematikan *L. monocytogenes* yang diinokulasikan pada produk tersebut sebanyak  $10^5$  cfu/ml. Produk daging ikan tersebut dikemas dan disimpan pada suhu 2°C selama 6 hari. Perlakuan penambahan nisin saja (0,1%) atau kombinasi dengan asam dehidroasetat 0,5%, secara signifikan mengurangi populasi *L. monocytogenes* sebesar 2,2 dan 3,1 log cfu/ml secara berturut-turut. (Degnan *et al.*, 1995).

Aplikasi nisin yang dikombinasikan dengan perlakuan penambahan NaCl, pengaturan CO<sub>2</sub> dan penyimpanan pada suhu rendah juga menunjukkan aktivitas antagonis terhadap pertumbuhan *L. monocytogenes* yang diinokulasikan pada ikan salmon asap dingin (Nilsson *et al.*, 1997). Secara umum, nisin pada konsentrasi 50 IU/ml memperlihatkan peningkatan penghambatan aktivitas jika digunakan bersama dengan 100% CO<sub>2</sub> dan NaCl. Pada suhu 5°C pertumbuhan *L. monocytogenes* dihambat pada ikan salmon yang dikemas vakum dengan penambahan nisin pada konsentrasi 500 atau 1000 IU/ml. Penyimpanan ikan salmon pada kondisi atmosfer 100% CO<sub>2</sub> memberikan hasil fase lag selama 8 hari, dan

setelah 27 hari *L. monocytogenes* mencapai jumlah  $10^6$  cfu/g. Pada perlakuan modifikasi atmosfer yang dikombinasi dengan nisin sebesar 500 IU/ml, fase lag menjadi 8 hari sedangkan dengan penambahan nisin 1000 IU/ml menjadi 20 hari.

Berdasarkan penelitian Budu-Amoako *et al.* (1999), kombinasi perlakuan penambahan nisin dengan pemanasan lunak, meningkatkan sifat antimikrobia terhadap *L. monocytogenes* pada lobster yang dikemas dingin dalam kaleng. Penambahan nisin pada larutan garam yang diisikan ke dalam kaleng bersama lobster sebanyak 25 mg/kg dari isi kaleng, dikombinasikan dengan proses pemanasan kaleng sampai suhu internal mencapai 60°C selama 5 menit atau 65°C selama 2 menit, menurunkan jumlah *L. monocytogenes* yang diinokulasi sebesar 3-5 log.

Efek antilisteria dari kultur bakteri asam laktat telah diteliti oleh Nilsson *et al.* (1999), yang membuktikan kemampuan *Carnobacterium piscicola* dalam menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* pada ikan salmon asap dingin dalam kemasan vakum yang disimpan pada suhu 5°C, tanpa menyebabkan penyimpangan sifat sensoris. Supernatan bebas sel *Carnobacterium piscicola*, mampu menghambat *L. monocytogenes* akibat bakteriosin yang dihasilkannya. Strain *C. piscicola* yang menghasilkan bakteriosin memperpanjang fase lag pertumbuhan *L. monocytogenes* sampai 7 hari, diikuti dengan penurunan jumlah *L. monocytogenes* dari  $10^3$  menjadi kurang dari  $10^2$  cfu/ml setelah 32 hari inkubasi.

Sedangkan Duffes *et al.* (1999), meneliti penghambatan *L. monocytogenes* oleh strain-strain *Carnobacterium* dan ekstrak kasar bakteriosin yang dihasilkan, pada ikan salmon asap dingin yang dikemas vakum dan disimpan dalam suhu refrigerasi. *Carnobacterium piscicola* V1 bersifat bakterisidal terhadap *L. monocytogenes* pada suhu 2 °C sementara *Carnobacterium divergens* V41 mempunyai efek bakteriostatik. *Carnobacterium piscicola* SF668 pada suhu 8°C memperpanjang fase lag dan pada suhu 4°C mempunyai efek bakteriostatik terhadap *L. monocytogenes*. Pertumbuhan *Listeria* tidak dipengaruhi oleh senyawa non-bakteriosin yang dihasilkan oleh *C. piscicola*.

### Aplikasi pada telur

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat juga menunjukkan efek antagonis terhadap *L. monocytogenes* pada produk telur cair. Knight *et al.* (1999) meneliti nilai D dan nilai Z dari *L. monocytogenes* Scott A pada telur utuh cair dengan penambahan nisin 90 atau 10 mg/ml dan NaCl (0 atau 10%) dengan prosedur pencelupan. Penambahan nisin pada telur cair yang tidak diberi garam menurunkan secara cepat jumlah bakteri sebanyak 4 log dalam 1 jam. Nisin dengan nyata menurunkan nilai D pada telur utuh cair baik yang ditambah garam maupun tidak, yang telah dipasteurisasi pada suhu kurang dari 58°C. Sedangkan pada telur cair yang dipasteurisasi pada suhu standar pasteurisasi yang berlaku di Canada dan US (60°C tanpa garam atau 63°C dengan penambahan garam) penambahan nisin 2 jam sebelum perlakuan pasteurisasi, menurunkan nilai D secara nyata sebab bakteri yang sudah dalam keadaan luka karena bakteriosin, semakin sensitif terhadap perlakuan panas. Jadi nisin bekerja sinergis dengan pemanasan, sehingga potensial diterapkan untuk mengendalikan *L. monocytogenes* pada produk telur cair pasteurisasi.

### Aplikasi pada Susu Segar dan Susu Pasteurisasi/Sterilisasi

Penambahan nisin dan pengaktifan sistem laktoperoksidase-tiosianat-peroksidase (sistem LP) merupakan metode pengawetan yang berhubungan dengan bakteri asam laktat yang paling banyak diaplikasikan pada susu segar, pasteurisasi dan sterilisasi. Jung *et al.* (1992), meneliti pengaruh lemak dan emulsifier pada aktivitas antibakteria nisin yang ditambahkan pada susu. Susu cair dipersiapkan dengan berbagai konsentrasi lemak (0 sampai 12,9%) dan berbagai konsentrasi nisin (0-50 U/ml). Efek antibakteri diuji dengan menginokulasikan *L. monocytogenes* Scott A sebanyak kira-kira 7-7,5 log cfu/ml. Pada 2 jam setelah inokulasi, jumlah bakteri turun menjadi 0,30 log cfu/ml pada susu skim dengan penambahan nisin 50 U/ml, sedangkan pada susu skim dengan nisin 10 U/ml jumlah bakteri menjadi 2,90 log cfu/ml. Pada susu skim yang tidak ditambah nisin, jumlah *L. monocytogenes*

bertambah menjadi 7,8 log cfu/ml. Pada susu dengan kadar lemak 12,9% keefektifan nisin dalam menghambat bakteri sangat menurun, yaitu pada penambahan nisin sebanyak 50 U/ml jumlah bakteri hanya turun sampai 5,87 log cfu/ml sedangkan pada penambahan nisin 10 U/ml jumlah bakteri menjadi 6,57 log cfu/ml. Adanya Tween-80 yang merupakan emulsifier nonionik, dapat mengkonter penurutan aktivitas nisin pada susu berlemak, sedangkan emulsifier anionik seperti lesitin tidak berpengaruh terhadap aktivitas nisin

Telah dilakukan penelitian aktivitas antimikroba sistem LP terhadap 4 strain *L. monocytogenes* yaitu Scott A, 5069, ATCC 19119, dan NCTC 11994, pada susu segar yang disimpan pada suhu refrigerasi. Pada susu segar ditambahkan NaSCN 0,25mM dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,25mM. Sistem LP menunjukkan aktivitas bakterisidal terhadap *L. monocytogenes* pada suhu 4 dan 8°C. Besarnya aktivitas tergantung dari suhu, waktu inkubasi dan strain listeria yang diuji. Nilai D dari strain-strain *L. monocytogenes* yang diuji pada susu tersebut berkisar antara 4,1 sampai 11,2 hari jika disimpan pada suhu 4°C, sedangkan jika disimpan pada suhu 8°C nilai D-nya berkisar antara 4,4 sampai 9,7 hari (Gaya *et al.*, 1991).

Sedangkan Denis dan Ramet (1989), meneliti aktivitas antibakteria dari sistem LP pada pertumbuhan dan ketahanan hidup *L. monocytogenes* pada susu UHT (Ultra High Temperature). *L. monocytogenes* yang diuji adalah strain ATCC 19111 dengan konsentrasi sel bakteri yang diinokulasikan pada produk sebesar 10, 10<sup>4</sup> atau 10<sup>7</sup> cfu/ml. Produk yang diuji disimpan pada suhu 4 dan 15°C. Pada susu UHT, perlakuan sistem LP efektif menghambat dan menginaktifkan secara total sel bakteri *L. monocytogenes* yang diinokulasikan ke dalam sampel. Nilai D yang diperoleh adalah sekitar 5 hari pada suhu 15°C dan 8 hari pada suhu 4°C. Jadi efisiensi sistem LP dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sistem LP efektif diaplikasikan pada produk susu untuk menghambat dan membunuh *L. monocytogenes*.

Sistem LP juga menunjukkan efek antilisteria pada susu skim (Siragusa dan Johnson 1989). Sistem LP yang terdiri dari 0,37 U/ml

laktoperoksidase, 0,3 mM KSCN dan 0,3 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menunda pertumbuhan *L. monocytogenes* Scott A dalam susu yang disimpan pada suhu 20°C. Perlakuan tersebut membatasi pertumbuhan *L. monocytogenes* yang diinokulasikan ke dalam susu skim, dimana jumlah sel yang dihitung pada pengamatan jam ke- 0, 36 dan 68, berturut-turut sebesar 5,7 ; 6,4 , dan 7,9 cfu/ml sedangkan pada kontrol dimana tidak ada aktivitas sistem LP, jumlah sel pada pengamatan tersebut adalah 5,7 ; 98 ; dan 11,2 cfu/ml.

### Aplikasi pada keju

Bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkannya juga telah diaplikasikan pada produk olahan susu yaitu keju, sebagai antimikrobia untuk mengendalikan *L. monocytogenes*. Aplikasi bakteri asam laktat dalam bentuk starter kultur dalam pembuatan keju selain berperan sebagai antimikrobia juga untuk meningkatkan flavor yang khas pada produk yang dihasilkan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hicks dan Lund (1991), asam laktat yang dihasilkan dalam fermentasi oleh bakteri asam laktat, berpengaruh terhadap ketahanan *L. monocytogenes* pada produk keju Cottage selama penyimpanan pada suhu rendah dan pada kondisi *temperatur abuse*. Keju Cottage dari 3 sumber yang berbeda, diinokulasi dengan *L. monocytogenes* F6861 dan disimpan pada suhu 4, 8, dan 12 °C selama 14 hari. Pada akhir penyimpanan, pada semua keju dari sumber dan dengan perlakuan suhu penyimpanan yang berbeda menunjukkan penurunan jumlah *L. monocytogenes* dengan besar penurunannya berbeda, dimana pada keju yang mempunyai pH paling rendah dan total asam laktat paling tinggi menunjukkan penurunan jumlah sel *L. monocytogenes* terbesar, sehingga diduga bahwa asam laktat hasil dari fermentasi oleh bakteri asam laktat yang terbentuk selama penyimpanan, mempunyai efek antilisteria.

Asam yang dihasilkan starter kultur bakteri asam laktat juga mempunyai efek antimikrobia terhadap *L. monocytogenes* Scott A dalam keju putih yang direndam dalam larutan garam (*white pickled cheese*). Keju dibuat dari susu yang telah dipasteurisasi dan diinokulasi dengan 10<sup>4</sup> sampai

10<sup>5</sup> cfu/ml *L. monocytogenes*, ditambah garam 4% dan disimpan dalam larutan garam 4% pada suhu 4°C selama 60 hari. Setelah 50 hari dalam curd dan 30 hari dalam larutan garam, *L. monocytogenes* sudah tidak terdeteksi. pH larutan garam yang digunakan untuk merendam keju turun sampai 4,7 dan diduga penurunan pH tersebut yang mempunyai daya antimikrobia terhadap *L. monocytogenes* (Abdalla *et al.*, 1993).

Penambahan kultur bakteri asam laktat sebagai antilisteria pada keju juga diteliti oleh Sulzer dan Busse (1991). Pada penelitian tersebut, ditambahkan kultur *Enterococcus*, *Lactococcus* dan *Lactobacillus* pada pembuatan keju Camembert dari susu yang diinokulasi dengan *L. monocytogenes*. Waktu inokulasi *L. monocytogenes* dilakukan dengan bervariasi yaitu pada tahap awal (diinokulasikan pada tangki susu) atau pada berbagai tahap pematang keju (*ripening*). Hasil dari penelitian tersebut adalah bahwa *Listeria* pada keju Camembert mengalami tekanan jika kontaminasi oleh *L. monocytogenes* terjadi pada tahap awal pematangan keju. Hasil tersebut disebabkan karena penghambatan bakteri asam laktat terhadap *L. monocytogenes* efektif pada jumlah sel *L. monocytogenes* yang tidak terlalu tinggi. Jika kontaminasi oleh *L. monocytogenes* terjadi pada awal pembuatan keju (seperti yang diuji dengan inokulasi pada tangki bahan baku susu), maka bakteri akan sempat berkembangbiak pada lingkungan yang penuh nutrisi tersebut. Dan karena pada awal belum ditambahkan kultur bakteri asam laktat maka penurunan pH belum terjadi sehingga semakin mendukung *L. monocytogenes* untuk berkembang biak. Jika kontaminasi terjadi pada tahap awal pematangan maka saat itu lingkungan bakteri patogen dalam keadaan pH cukup rendah sehingga dengan adanya senyawa antimikrobia lain dari bakteri asam laktat misalnya bakteriosin, *L. monocytogenes* semakin tertekan. Sedangkan kontaminasi *L. monocytogenes* pada tahap akhir pematangan juga tidak efektif dihambat oleh penambahan bakteri asam laktat, sebab pada tahap akhir pematangan, dalam keju Camembert sudah banyak tumbuh jamur yang sengaja ditumbuhkan dalam pembuatan keju tersebut. Pertumbuhan jamur umumnya menyebabkan peningkatan pH dan

adanya aktivitas proteolitik pada lingkungan sekitarnya. Peningkatan pH membuat lingkungan yang lebih baik bagi pertumbuhan *L. monocytogenes*. Sedangkan aktivitas proteolitik, menyebabkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein akan terhidrolisa dan berkurang aktivitasnya. Kedua kombinasi tersebut mendukung pertumbuhan *L. monocytogenes* dan menurunkan kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri patogen tersebut.

Hasil penelitian yang dilakukan Zottola *et al.* (1994), menunjukkan bahwa penggunaan keju cheddar yang mengandung nisin sebagai bahan baku untuk membuat keju olah, efektif untuk mengendalikan *L. monocytogenes* pada produk akhirnya. Keju Cheddar dibuat dengan penambahan lactococci penghasil nisin, sehingga pada keju mengandung 400-1200 IU nisin/g keju. Kemudian keju tersebut digunakan untuk membuat keju olah lunak (processed cheese spreads) yang dikemas dingin (tanpa pasteurisasi) dengan kadar air dan nisin yang bervariasi. Keju olah yang dihasilkan mempunyai kadar air 44 dan 60%, sedangkan kandungan nisinya adalah 100 dan 300 IU/g. Keju olah tersebut diinokulasi dengan *L. monocytogenes* V7 1000 cfu/g dan disimpan pada suhu 23 dan 37°C selama 8 minggu. Hasilnya adalah terjadi penurunan jumlah *L. monocytogenes* yang nyata pada semua keju dengan kadar air dan konsentrasi penambahan nisin yang berbeda.

Nisin juga menunjukkan aktivitas antilisteria pada keju tipe Ricotta yang disimpan jangka panjang (70 hari) pada suhu 6-8°C. Keju dibuat dari susu yang tidak dipasteurisasi dengan pengasaman menggunakan asam asetat sehingga pH akhirnya 5,9 kemudian ditambahkan kalsium klorida selama proses pemanasan. Nisin ditambahkan dalam bentuk Nisaplin pada susu dan lima strain *L. monocytogenes* diinokulasikan pada keju sebelum disimpan sebanyak  $10^2$  sampai  $10^3$  cfu/g. Penambahan nisin 2,5mg/l efektif menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* pada penyimpanan selama 8 minggu sedangkan pada keju yang dibuat tanpa nisin jumlah *L. monocytogenes* sudah mencapai tingkat yang tidak aman pada penyimpanan selama 1-2 minggu. (Davies *et al.*, 1997)

Disamping kultur bakteri asam laktat dan bakteriosin, sistem LP juga telah diketahui mempunyai efek antimikroba terhadap *L. monocytogenes* pada keju seperti yang dilaporkan oleh Denis dan Ramet (1989), yang meneliti efek sistem LP pada pertumbuhan dan ketahanan hidup *L. monocytogenes* dalam keju lunak French. *L. monocytogenes* yang diuji adalah strain ATCC 19111 dengan konsentrasi sel bakteri yang diinokulasikan pada produk sebesar  $10^4$  atau  $10^7$  cfu/ml dan produk yang diuji disimpan pada suhu 4 dan 15°C. Hasil dari penelitian tersebut adalah jumlah sel *L. monocytogenes* yang diinokulasikan berkurang dengan adanya sistem LP.

### Aplikasi pada Es Krim

Selain pada keju, bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat juga telah diaplikasikan pada produk olahan susu lain yaitu es krim, untuk mengendalikan *L. monocytogenes*, seperti yang telah dilaporkan oleh Dean dan Zottola (1996), yang meneliti efek penambahan nisin terhadap ketahanan *L. monocytogenes* V7 pada es krim yang dibuat dari susu lemak penuh/full fat (10% lemak) dan yang sudah dikurangi lemaknya (3% lemak). Es krim dengan komposisi lemak bervariasi diinokulasi dengan *L. monocytogenes* selama pengolahan dan dibekukan secara lunak, dilanjutkan dengan pembekuan pada suhu -18°C selama 3 bulan. Pada akhir penyimpanan, es krim yang tidak ditambah nisin jumlah populasi *L. monocytogenes* tidak berubah dari yang diinokulasikan. Perlakuan penambahan nisin pada es krim yang dibuat dengan lemak 3%, efektif mematikan *L. monocytogenes* dan pada akhir penyimpanan tidak ditemui sel *L. monocytogenes* pada produk tersebut. Sedangkan pada es krim dengan kadar lemak 10% jumlah *L. monocytogenes* berkurang tetapi tidak nyata. Stabilitas nisin relatif konstan selama penyimpanan pada -18°C.

### Aplikasi pada produk sayuran

Bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkannya juga telah diaplikasikan sebagai antimikroba terhadap *L. monocytogenes* pada bahan pangan nabati. Hasil penelitian Bennik *et al.* (1999), menunjukkan potensi bakteriosin

yang dihasilkan oleh *Enterococcus mundtii* yaitu mundticin untuk menghambat dan membunuh *L. monocytogenes* pada produk sayuran yang diolah secara minimal. Bakteriosin yang diaplikasikan pada tahap pencucian atau dengan prosedur pelapisan/coating, mencegah pertumbuhan *L. monocytogenes* pada produk taoge atau kecambah kacang hijau yang disimpan pada kondisi atmosfer termodifikasi (1.5% O<sub>2</sub> ; 20% CO<sub>2</sub> ; 78.5% N<sub>2</sub>) pada suhu refrigerasi yaitu 8°C.

## PENUTUP

Dari uraian pada makalah ini, terlihat bahwa bakteri asam laktat dan senyawa yang dihasilkan telah digunakan secara luas sebagai pengawet hayati untuk meningkatkan keamanan pangan terhadap kontaminasi bakteri patogen *L. monocytogenes*. Bakteriosin terutama nisin adalah senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang paling banyak diaplikasikan pada bahan pangan sebagai senyawa antimikrobia terhadap *L. monocytogenes*. Aplikasi bakteri asam laktat atau senyawa yang dihasilkan sebagai antilisteria yang telah banyak diteliti adalah pada bahan pangan hewani.

Walaupun belum banyak diteliti (dibandingkan dengan produk pangan hewani), aplikasi bakteri asam laktat atau senyawa antimikrobia yang dihasilkan (terutama bakteriosin) pada bahan pangan nabati terutama sayuran, sebenarnya mempunyai potensi untuk dikembangkan. Potensi tersebut didukung dengan semakin meningkatnya kecenderungan untuk mengkonsumsi sayuran segar yang siap dikonsumsi yang diolah secara minimal (*ready-to-eat minimally processed vegetable*) yang timbul seiring dengan keinginan yang kuat untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan dengan mengkonsumsi makanan yang lebih segar, lebih alami, sedikit mengalami proses pengolahan dan sedikit menggunakan bahan tambahan atau bahan pengawet kimia sintetis serta mudah dan praktis penyiapannya. Pada produk-produk semacam itu masih mungkin mengandung bakteri patogen dan pembusuk diantaranya adalah *L. monocytogenes*.

Kemampuan bakteri asam laktat untuk menghasilkan senyawa yang antagonis terhadap *L. monocytogenes* pada suhu rendah dengan tidak mempengaruhi citarasa dan kenampakan produk, sangat potensial diaplikasikan sebagai pengawet hayati pada produk-produk sayuran segar yang diolah secara minimal, untuk bekerja secara sinergis dengan perlakuan penyimpanan suhu rendah yang umumnya diterapkan bagi produk-produk semacam itu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, O.M., P.M. Davidson, G.L. Christen. 1993. **Survival of selected pathogenic bacteria in white pickled cheese made with lactic acid bacteria or antimicrobials.** J. Food Protect. 56:972-976
- Avery, S.M., S. Buncic. 1997. **Antilisterial effects of a sorbate-nisin combination in vitro and on packaged beef at refrigeration temperature.** J. Food Protect. 60:1075-1080
- Baird-Parker, A.C. 1980. **Organic acids.** In: Silliker, J.H., R.P. Elliot, A.C. Baird-Parker, F.L. Bryan, J.H.B. Christian, D.S. Clark, J.C. Olson, dan Robert Jr., **Microbial ecology of food.** New York: Academic Press. pp. 126-135
- Bennik, MHJ., W. van-Overbeek, EJ. Smid, LGM. Gorris. 1999. **Biopreservation in modified atmosphere stored mungbean sprouts: the use of vegetable-associated bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control the growth of *L. monocytogenes*.** Lett. Appl. Microbiol. 28:226-232
- Bredholt, S., T. Nesbakken, A. Holck. 1999. **Protective cultures inhibit growth of *Listeria monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 in cooked, sliced, vacuum- and gas-packaged meat.** Int. J. Food Microbiol. 53:43-52
- Budu-Amoako, E., RF. Ablett, J. Harris, J. Delves-Broughton. 1999. **Combined effect of nisin and moderate heat on destruction of *L. monocytogenes* in cold-pack lobster meat.** J. Food Protect. 62:46-50

- Campanini, M., I. Pedrazzoni, S. Barbuti, P. Baldini. 1993. **Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures.** *Int. J. Food Microbiol.* 20:169-175
- Christensen, D.P., dan R.W. Hutkins. 1992. **Collapse of the proton motive force in *Listeria monocytogenes* caused by a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*.** *Appl. Environ. Microbiol.* 58:3312-3315
- Condon, S. 1987. **Responses of lactic acid bacteria to oxygen.** *FEMS. Microbiol. Rev.* 46:269-280
- Daeschel, A.M., dan Klaenhammer. 1985. **Association of a 13,6 megadalton plasmid in *Pediococcus pentosaceus* with bacteriocin activity.** *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1538-1541
- Dahl, T.A., W.R. Midden dan P.E. Hartman. 1989. **Comparison of killing of gram-negatif and gram-positif bacteria by pure singlet oxygen.** *J. Bacteriol.* 171:2188-2194
- Davies, E.A., H.E. Bevis, J.D. Broughton. 1997. **The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in Ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*.** *Lett. Appl. Microbiol.* 24:343-346
- Dean, J.P., E.A. Zottola. 1996. **Use of nisin in ice cream and effect on the survival of *Listeria monocytogenes*.** *J. Food Protect.* 59:476-480
- Degnan, A.J., M.L. Tamplin, R. Murphree, C.W. Kaspar, J.B. Luchansky. 1995. **Control of *Listeria monocytogenes* on catfish fillets (*Ictalurus punctatus*) using food grade antimicrobials.** *J. Food Protect.* 58:11-15
- Denis, F., J.P. Ramet. 1989. **Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* in trypticase soy broth, UHT milk and French soft cheese.** *J. Food Protect.* 52:706-711
- De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. 1994. **Anti-microbial potential of lactic acid bacteria** *In: De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetic and application.* London: Blackie Academic & Professional.
- Duffes, F., C. Corre, F. Leroi, X. Dousset, P. Boyaval. 1999. **Inhibition of *Listeria monocytogenes* by in situ produced and semipurified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon.** *J. Food Protect.* 62 :1394-1403
- Enan G., A.A. El-Essawy, M. Uyttendaele, dan J. Debevere. 1996 **Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UG1 isolated from dry sausage: characterization, production and bactericidal action of plantaricin UG1.** *Int. J. Food Microbiol.* 30:189-215
- Franz, C.M.A.P., M. Du-Toit, N.A. Olasupo, U. Schillinger, dan W.H. Holzapfel. 1998. **Plantaricin D, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BFE 905 from ready-to-eat salad.** *Lett. Appl. Microbiol.* 26:231-235
- Gaya, P., M. Medina, M. Nunez. 1991. **Effect of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* behavior in raw milk at refrigeration temperatures.** *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3355-3360
- Hicks, S.J., B.M. Lund. 1991. **The survival of *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese.** *J Appl. Bacteriol.* 70:308-314
- Holley, R.A., A.O. Gill. 2000. **Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA.** *Food Research Int.* 3:83-90
- Jay, J.M. 1997. **Modern Food Microbiology.** 5<sup>th</sup> edition. New York : International Thomson Publishing
- Jung, D.S., F.W. Bodyfelt, M.A. Daeschel. 1992. **Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *L. monocytogenes* in fluid milk.** *J. Dairy Sci.* 75:387-393

- Juntilla, J.R., S.I. Niemela dan J. Hirn. 1988. **Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non haemolytic *Listeria***. J. Appl. Bacteriol. 65:321-327
- Kaiser, A.L., dan T.J. Montville. 1996. **Purification of the bacteriocin Bavaricin MN and characterization of its mode of action against *Listeria monocytogenes* Scott A cells and lipid vesicles**. Appl. Environ. Microbiol. 62:4529-4535
- Kanatani K., M. Oshimura, dan K. Sano. 1995. **Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus***. Appl. Environ. Microbiol. 61:1061-1067
- Knight, KP., FM. Bartlett, RC. McKellar, LJ. Harris. 1999. **Nisin reduces the thermal resistance of *Listeria monocytogenes* Scott A in liquid whole egg**. J. Food Protect. 62:999-1003
- Larsen, A.G., F.K. Vogensen, dan J. Josephsen. 1993. **Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401**. J. Appl. Bacteriol. 75:113-122
- Mahadeo, M., S.R. Tatini. 1994. **The potential use of nisin to control *Listeria monocytogenes* in poultry**. Lett. Appl. Microbiol. 18:323-326
- Murray, M., JA. Richard. 1997. **Comparative study of the antilisterial activity of nisin A and pediocin AcH in fresh ground pork stored aerobically at 5°C**. J. Food Protect. 60 :1534-1540
- Nilsson, L., H.H. Huss, L. Gram. 1997. **Inhibition of *L. monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere**. Int. J. Food Microbiol. 38:217-227
- Nilsson, L., L. Gram, HH. Huss. 1999. **Growth control of *L. monocytogenes* on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora**. J. Food Protect. 62:336-342
- Nissen-Meyer, J., H. Holo, S. Havastein, K. Sketten, dan I.F. Nes. 1992. **A novel lactococcal bacteriocin whose activity depend on the complementary action of two peptides**. J. Bacteriol. 174:5686-5692
- Pilet, M.F., X. Dousset, R. Barre, G. Novel, M. Desmazeaud, dan JC. Piard. 1995. **Evidence for two bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* and *Carnobacterium divergens* isolated from fish and active against *Listeria monocytogenes***. J. Food Protect. 58:256-262
- Pot, B., W. Ludwig, Kersters, dan K. Schleifer. 1994. **Taxonomy of lactid acid bacteria**. In : De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. **Bacteriocins of lactic acid bacteria : microbiology, genetic and application**. London: Blackie Academic & Professional
- Reiter, B. dan G. Harnulv. 1984. **Lactoperoxidase antibacterial system : natural occurrence, biological function and practical applications**. J. Food Protect. 47:724-732
- Salminen, S. dan A.V. Wright. 1993. **Lactic Acid Bacteria**. New York: Marcel Dekker Inc.
- Shanshan-Zhang, A. Mustapha. 1999. **Reduction of *L. monocytogenes* and Escherichia coli O157:H7 numbers on vacuum-packaged fresh beef treated with nisin combined with EDTA**. J. Food Protect. 62:1123-1127
- Siragusa, G.R., M.G. Johnson. 1989. **Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth by the lactoperoxidase-thiocyanate-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> antimicrobial system**. App. Environ. Microbiol. 55:2802-2805
- Sneath, P.M.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe dan J.G. Holt. 1986. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore, MD: Williams and Wilkins
- Sulze, G., dan Ma. Busse. 1991. **Growth inhibition of *Listeria* spp. on Camembert cheese by bacteria producing inhibitory substances**. Int. J. Food. Microbiol. 14:287-296.
- Talaat-El-Khateb, A.E. Yousef, H.W. Ockerman. 1993. **Inactivation and attachment of *Listeria monocytogenes* on beef muscle treated with lactic acid and selected bacteriocins**. J. Food Protect. 56:29-33

- Talarico, T.L., I.A. Casas, T.C. Chung dan W.J. Dobrogosz. 1988. **Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri***. Antimicrob. Agents Chemother. 32:1854-1858
- Talarico, T.L. dan W.J. Dobrogosz. 1989. **Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri***. Antimicrob. Agents Chemother. 33:674-679
- Villani, F., G. Salzano, E. Sorrentino, O. Pepe, P. Marino, dan S. Coppola. 1993. **Enterocin 226NWC, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* 226, active against *Listeria monocytogenes***. J. Appl. Bacteriol. 74:380-387
- Villani, F., O. Pepe, G. Mauriello, G. Salzano, G. Moschetti, dan S. Coppola. 1995. **Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus***. Int. J. Food Microbiol. 25:179-190
- Waite, B.L., dan R.W. Hutkins. 1998. **Bacteriocins inhibit glucose PEP:PTS activity in *Listeria monocytogenes* by induced efflux of intracellular metabolites**. J. Appl. Microbiol. 85:287-292
- Winkowski, K., T.J. Montville. 1992. **Use of meat isolate, *Lactobacillus bavaricus* MN, to inhibit *Listeria monocytogenes* growth in a model meat gravy system**. J. Food Saf. 13:19-31
- Xintain-Ming, G.H. Weber, J.W. Ayres, W.E. Sandine. 1997. **Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats**. J. Food Sci. 62:413-415
- Zottola, E.A., T.L. Yezzi, D.B. Ajao, R.F. Roberts. 1994. **Utilization of Cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods**. Int. J. Food Microbiol. 24:227-238