

# TEKNIK PENGAWETAN *FILLET* IKAN NILA MERAH DENGAN SENYAWA ANTI BAKTERI ASAL *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* DAN *BIFIDO BACTERIA BIFFIDUM*

Dede Saputra<sup>1</sup>; Tati Nurhayati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Industrial Engineering Department, Faculty of Engineering, Binus University  
Jl. Alam Sutera Boulevard No. 1. Alam Sutera - Serpong Tangerang 15325

<sup>2</sup>Department of Aquatic Product Technology, Faculty of Fisheries and Marine Sciences  
Institut Pertanian Bogor.

Jl. Lingkar Akademik Wing III, Gedung FPIK, IPB, Bogor 16116  
ddsaputra@binus.ac.id; ddsaputra87@gmail.com

## ABSTRACT

*Red tilapia is a good commodity to be developed because it has a high nutritional value composition, with a protein content 17.8%, fat 2.8%, and others composition. The fillet of red tilapia fish is easy to spoil, because of S. aureus, Salmonella sp., and other microbes. Many methods are used to save and preserve the quality of fillet, such fillet preparation through good sanitation practices, cooling process, but the effort were not optimal. The objectives of this study were to 1) evaluate the potency of antibacterial produced by Lactobacillus acidophilus and Bifidobacteria biffidum to inhibit the growth of spoilage bacteria that contaminated the red tilapia fillet; 2) evaluate the effect of antibacterial compounds produced by Lactobacillus acidophilus and Bifidobacteria biffidum of inhibiting the setback fillet quality, 3) determine the shelf life of red tilapia fillet at room temperature. Antibacterial activity test is done by using the well diffusion method; the rate of deterioration of quality of fish tests done by observing the organoleptic parameters, pH measurement test, total volatile base method. Total number of bacteria were performed by Standard Plate Count (SPC) test. The LAB's are able to inhibit the growth of spoilage bacteria Pseudomonas aeruginosa about 8.67-9.00 mm and Listeria monocytogenes about 8.33-9.00 mm through the well diffusion method. pH values about 5.71-5.74, TVB values about 1,26-21.43 with SPC test about 1.39-4.83 CFU/mL. The antibacterial compounds could inhibit the rate of deterioration of quality red tilapia fillets until 14 hours.*

**Keywords:** *preserving, fillet, red tilapia, antibacterial, LAB*

## ABSTRAK

*Ikan nila merupakan komoditas yang sangat baik untuk dikembangkan karena memiliki komposisi nilai gizi yang tinggi, dengan kandungan protein sebesar 17,8%, lemak 2,8%, dan komposisi lainnya. Filet ikan nila merah mudah mengalami kerusakan, karena S. aureus, Salmonella sp., dan mikroba lainnya. Banyak metode yang telah digunakan untuk menyimpan dan mengawetkan filet, seperti penerapan praktik sanitasi yang baik, proses pembekuan, tetapi upaya itu tidak optimal. Tujuan dari penelitian ini adalah pertama, mengevaluasi potensi antibakteri yang dihasilkan oleh Lactobacillus acidophilus dan Bifidobacteria biffidum untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang mengontaminasi filet nila merah. Kedua, mengevaluasi efek senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh Lactobacillus acidophilus dan Bifidobacteria biffidum dalam menghambat kualitas kemunduran mutu filet. Ketiga, menentukan umur simpan filet nila merah pada suhu kamar. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumur difusi; uji kemunduran mutu ikan dilakukan dengan mengamati parameter organoleptik, pengukuran pH, metode jumlah total basa volatil. Total jumlah bakteri dilakukan dengan Standard Plate Count (SPC). BAL ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk Pseudomonas aeruginosa sekitar 8,67-9,00 mm dan Listeria monocytogenes sekitar 8,33-9,00 mm melalui metode sumur difusi. Nilai pH sekitar 5,71-5,74, nilai TVB sekitar 1,26-21,43 dengan assai SPC sekitar 1,39-4,83 CFU / mL. Senyawa antibakteri dapat menghambat laju kerusakan filet nila merah sampai 14 jam.*

**Kata kunci:** *pengawetan, filet, nila merah, antibakteri, BAL*

## PENDAHULUAN

Nila merah merupakan salah satu jenis ikan budi daya air tawar yang mempunyai prospek cukup baik untuk dikembangkan. Kusumawardhani (1988) dalam Rostini (2007), nilai gizi protein nila merah per 100 g daging adalah 17,8%; lemak 2,8%; mineral 1,2% dan kandungan senyawa gizi lainnya. Dewasa ini hasil olahan nila merah yang umum disukai oleh masyarakat adalah *fillet* ikan. *Fillet* ikan nila merah produk pangan yang sangat mudah mengalami kerusakan (*perishable food*), salah satunya adalah kerusakan yang diakibatkan oleh aktivitas mikroba pembusuk seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. dan lainnya.

Banyak cara yang dapat dilakukan untuk menyelamatkan dan mempertahankan mutu *fillet* ikan, antara lain adalah preparasi *fillet* melalui praktek sanitasi yang baik dan proses pendinginan, namun upaya itu belum optimal. Dewasa ini beberapa cara pengawetan telah dilakukan untuk menyelamatkan produk hasil perikanan, salah satunya pemanfaatan kelompok antimikroba peptida bakteri Gram positif, terutama bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sifat antagonistiknya dalam bidang biopreservasi pangan (*food preservative*) dan antibakterial (*antibacterial agent*) penghambat bakteri patogenik Gram positif (Jack *et al.* 1995).

Penggunaan biopreservatif yang berasal dari bakteri asam laktat (BAL) pada pangan dilakukan karena dapat memperpanjang waktu penyimpanan dan menekan jumlah mikroorganisme yang tidak diinginkan. Bakteri ini tidak bersifat toksik sehingga aman untuk dikonsumsi, yang dikenal dengan sebutan *food grade microorganism* (Holzapfel *et al.* 1995). BAL dapat menurunkan pH bahan pangan. Penurunan pH tersebut dapat memperlambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk (Buckle *et al.* 1987).

Tujuan dari studi ini adalah untuk: (1) Mempelajari aktivitas senyawa antibakteri asal *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada *fillet* ikan nila merah. (2) Mempelajari pengaruh senyawa antibakteri asal *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum* dalam menghambat kemunduran mutu *fillet* ikan nila merah. (3) Mengetahui efektivitas senyawa antibakteri asal *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum* dalam memperpanjang umur simpan produk *fillet* ikan nila merah pada suhu ruang, melalui pengamatan parameter pH, analisis sensori, dan analisis biokimia daging *fillet* ikan nila.

## METODE

Bahan yang digunakan pada studi ini terdiri dari bahan utama yang meliputi isolat bakteri asam laktat yakni *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum* (yang diperoleh dari FTP UGM), bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (yang diperoleh dari lab Mikrobiologi SEAFast Center IPB). Media yang digunakan adalah jus wortel (sayur), *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) (Oxoid CM0361), *Mann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) (Oxoid CM0359), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient broth* (NB), Pepton Water (Oxoid), media *Plate Count Agar* (PCA), dan MRSA-AA (MRSA- *acetic acid*), kalium dihidrogen posfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dan bahan analisis mikrobiologi standar lainnya. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini *Hot plate* (Steroglass), pH Meter (Orion 2 star pH Bench top), Autoklaf (ALP Model-40), cawan petri (Pyrex), dan alat-alat analisis mikrobiologi standar lainnya.

### Persiapan bakteri uji

Bakteri yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri asal *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum* pada media jus wortel adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri-bakteri uji ini sebelumnya ditumbuhkan pada media agar miring NA

yang disimpan pada suhu refrigerasi. Bakteri sebelum digunakan maka perlu disegarkan terlebih dahulu pada media cair NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

#### **Uji aktivitas antibakteri (Bodade et al. 2008; Garriga et al. 1993)**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode agar difusi sumur terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Media NA yang mengandung bakteri uji  $10^7$  CFU/ml dituang ke cawan petri steril dan dibiarkan membeku, setelah itu, kemudian pada media tersebut dibuat sumu-sumur dengan diameter 6 mm. Ke dalam lubang tersebut dimasukan masing-masing 60 ml senyawa antimikroba yang telah diperoleh dari bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum* yang ditumbuhkan pada media jus wortel pasteurisasi. Selanjutnya cawan diinkubasi pada inkubator suhu 37 °C selama 24-48 jam.

#### **Pengukuran Derajat Keasaaman (pH) (Manual pH meter 2006)**

Sampel sebanyak 20 mL, dihomogenkan dan dibiarkan 15 menit. Selanjutnya diukur nilai pHnya dengan pH meter yang telah dikalibrasi dengan *buffer* pH 4,0 dan pH 7,0. Nilai pH diukur sebanyak tiga kali ulangan.

#### **Analisis Organoleptik (BSN 2006)**

Uji organoleptik bertujuan untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk *fillet* ikan nila merah yang telah ditambah isolat BAL. Uji organoleptik yang dilakukan adalah uji hedonik menggunakan 15 orang panelis tidak terlatih dan semi terlatih. Parameter yang diujikan meliputi atribut warna, aroma, tekstur, rasa, dan keseluruhan (*overall*). Penyajian sampel dilakukan satu per satu secara bergantian untuk mendapatkan penilaian yang objektif dari panelis.

#### **Uji Total Volatile Base (TVB) (AOAC 1984)**

Penetapan ini bertujuan untuk menentukan jumlah kandungan senyawa-senyawa basa volatil yang terbentuk akibat degradasi protein. Prinsip dari analisa TVB adalah menguapkan senyawa-senyawa basa volatil (amin, mono-, di-, dan trimetilamin) pada suhu kamar selama 24 jam. Senyawa tersebut kemudian diikat oleh asam borat dan kemudian dititrasi dengan larutan HCl.

$$\% N = \frac{mL\ HCl - mL\ blanko \times N\ HCl \times 14,007 \times 100\%}{mg\ contoh}$$

#### **Penghitungan Koloni (BAM 2001)**

Jumlah koloni bakteri dapat dihitung setelah diinkubasi pada suhu 35 °C selama 48 jam. Koloni bakteri dapat dihitung dengan rumus *Standard Plate Count* sebagai berikut:

$$N = \Sigma C / \{(1 * n_1) + (0,1 * n_2) + \dots\} * (d)$$

Di mana :

N	=	jumlah koloni per mL atau per gram produk
$\Sigma C$	=	jumlah semua koloni yang dihitung dari 2 cawan
$n_1$	=	jumlah cawan pada pengenceran pertama
$n_2$	=	jumlah cawan pada pengenceran kedua
d	=	pengenceran pertama yang dihitung

Limit deteksi metode *plating* berkisar 25 hingga 250 koloni. Ketika dalam cawan terdapat koloni kurang dari 25, maka dalam pelaporannya dikatakan bahwa jumlahnya  $<2,5 \times 10^1$  CFU/mL. Jika tidak ditemukan koloni dalam cawan hingga pengenceran terendah, maka pelaporannya sebanyak  $1,0 \times 10^1$  CFU/mL. Namun, jika koloninya melebihi 250, maka dianggap sebagai TBUD (tidak bisa untuk dihitung). Dengan demikian, hanya cawan yang jumlah koloninya berkisar 25 hingga 250 saja yang dapat dihitung sebagai jumlah koloni bakteri yang diinokulasikan.

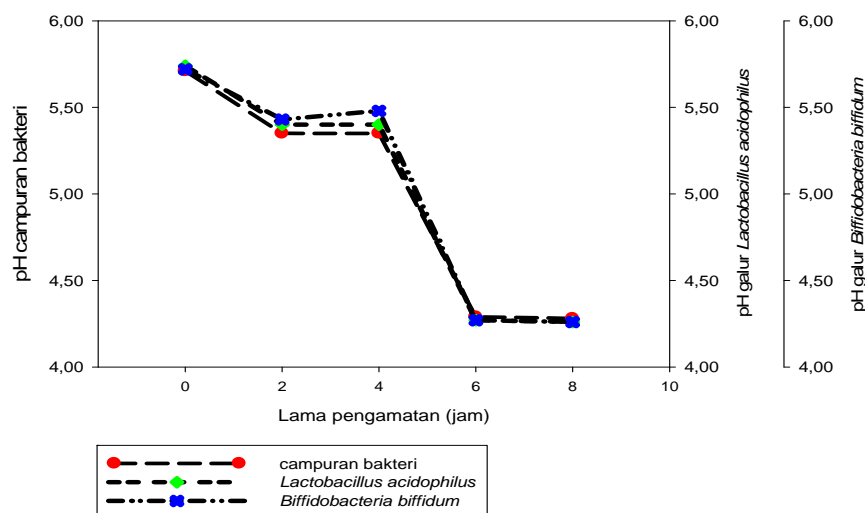
### Analisis Data

Analisis statistika yang digunakan pada penelitian ini meliputi analisis deskriptif dan analisis kuantitatif. Analisis deskriptif digunakan untuk mendeskripsikan pengaruh penggunaan BAL dalam menjaga stabilitas produk *fillet* selama masa simpan (fase kemunduran mutu). Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan, hasil beda nyata dianalisis dengan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) dengan *software* SPSS 16.0 (Steel & Torrie 1980; Uyanto 2009) dan data grafik yang diperoleh pada penelitian dianalisis Sigma-Plot 11.0.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perubahan Nilai pH Galur *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* dan Campuran Bakteri Selama Masa Simpan

Parameter pH merupakan parameter penting dalam menentukan kemampuan suatu mikroorganisme untuk dapat bertahan hidup pada suatu lingkungan. Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme fermentatif yang dapat hidup pada kisaran pH luas. Pertahanan utama sel bakteri dari lingkungannya adalah membran seluler yang terdiri atas struktur lemak dua lapis. Bila sel bakteri terpapar pada kondisi asam, maka membran sel dapat mengalami kerusakan dan berakibat hilangnya komponen-komponen intraseluler, seperti Mg, K, dan lemak dari sel. Berikut Gambar 1, menunjukkan perubahan nilai pH bakteri asam laktat *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan campuran bakteri.



Gambar 1 Perubahan Nilai pH BAL *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum* dan Campuran Selama Masa Simpan 0 Hingga 8 Jam Pada Media Wortel Pasteurisasi

Gambar 1 menunjukkan terjadinya penurunan nilai pH baik pada BAL galur *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum* maupun campuran kedua bakteri. pH BAL galur *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum*, dan campuran pada pengamatan jam ke-0 masing-masing sebesar 5,74; 5,72; dan 5,71. Nilai pH media wortel pasteuriasi mengalami penurunan setelah diinkubasi 8 jam untuk masing-masing galur yakni mencapai pH 4,26 (galur *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum*), serta 4,28 untuk campuran bakteri.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan laporan Barefoot & Nettles (1993) yang mengatakan bahwa genus BAL *Lactobacillus* mampu memproduksi senyawa antibakteri, yaitu bakteriosin, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), karbondioksida, dan diasetil. Jenie dan Rini (1995) melaporkan bahwa penggunaan *L. plantarum* dan *L. casei subsp Rhamnosus* mampu memproduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam jumlah yang tinggi sehingga cukup potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui sifat bakterisidalnya.

Filtrat *Lactobacillus* dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen seperti *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, dan *E. coli*, bahkan filtrat yang sudah disimpan selama 6 bulan memiliki kemampuan sama. Penurunan nilai pH yang cukup rendah yakni mencapai 4.0 menunjukkan bahwa galur-galur BAL yang digunakan memiliki aktivitas aktibakteri yang cukup baik. Kondisi pH rendah menyebabkan asam organik larut oleh lemak, kemudian memungkinkan menerobos membran sel dan mencapai sitoplasma patogen, disamping itu adanya kompetisi nutrisi, akumulasi D-asam amino dan menurunnya potensi redoks juga memberikan pengaruh terhadap daya hambat terhadap patogen (Heller *et al.* 2001).

### Aktivitas antibakteri isolat *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria bifidum*

Antibakteri berperan sebagai penghambat atau menginaktivasi mikroba patogen dengan menggunakan kemampuan antagonisnya dan beberapa galur BAL mampu memproduksi senyawa asam organik, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Oyetayo *et al.* 2003). Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa semua jenis galur BAL yang digunakan yakni *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum*, dan campuran bakteri mempunyai daya hambat terhadap bakteri uji *P. aeruginosa* dan *S.aureus* dengan diameter penghambatan cukup besar pada Tabel 1.

Tabel 1 Diameter penghambatan BAL galur *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum*, dan campuran bakteri terhadap bakteri uji

Jenis galur	Diameter penghambatan (mm)	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Campuran bakteri	9,00±1,00	9,00±1,00
<i>L. acidophilus</i>	8,67±0,50	8,67±2,08
<i>B. bifidum</i>	8,67±1,53	8,33±2,08

Keterangan: data disajikan purata ± standar deviasi

Tabel 1 menunjukkan bahwa diameter penghambatan terbesar terhadap bakteri indikator *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dihasilkan oleh campuran bakteri BAL yaitu dengan zona hambat sebesar 9,00±1,00 mm. Zona hambat yang cukup besar juga terlihat pada uji aktivitas antibakteri galur *L. acidophilus* dengan bakteri indikator *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dengan luas zona hambat yang diberikan oleh BAL pada masing-masing bakteri indikator adalah sebesar 8,67±0,50 mm dan 8,67±2,08 mm. Daya hambat terhadap bakteri indikator terendah dihasilkan oleh BAL *Bifidobacteria bifidum* yakni sebesar 8,67±1,53 mm terhadap *P. aeruginosa* dan 8,33±2,08 mm terhadap *S. aureus*.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tahap ini terlihat bahwa penghambatan BAL tunggal dan campuran bakteri terhadap bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*) umumnya menunjukkan aktivitas lebih tinggi dari pada bakteri gram positif (*S. aureus*). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sejalan dengan laporan Surono (2001) yang menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri BAL dari berbagai sumber isolasi mempunyai daya penghambatan terhadap bakteri gram negatif *E. coli*. Setyawardani (2012) juga menjelaskan bahwa uji aktivitas antibakteri BAL jenis *L. plantarum* TW10 memiliki daya hambat sebesar  $7,5 \pm 1,4$  mm dan  $9,9 \pm 2,5$  mm terhadap patogen *B. cereus*. Selain itu jenis BAL *L. rhamnosus* TW3 memiliki daya hambat sebesar  $10,4 \pm 1,2$  mm terhadap bakteri *S. aureus*. Yulinery *et al.* (2009), pada penelitiannya melaporkan bahwa penggunaan isolat *Lactobacillus* Mar8 mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan zona hambatan 8 mm pada suhu kamar dan *refrigerator* ( $4^{\circ}$  C), dan terhadap bakteri *Vibrio* sp. 13,25 mm pada suhu  $4^{\circ}$  C. Ammor *et al.* (2005) dan (2006) melaporkan bahwa penggunaan BAL strain *Lactobacillus sakei* mampu menghambat pertumbuhan bakteri indikator *Enterococcus* sp (ELI-60), dengan zona hambat  $< 50$  mm<sup>2</sup>. Daya hambatan ini disebabkan oleh adanya senyawa yang bersifat antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus*. Senyawa antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus* adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin (Barefoot dan Nettles 1993).

## **Aplikasi Aktivitas Antibakteri Campuran bakteri BAL pada *Fillet* Nila Merah**

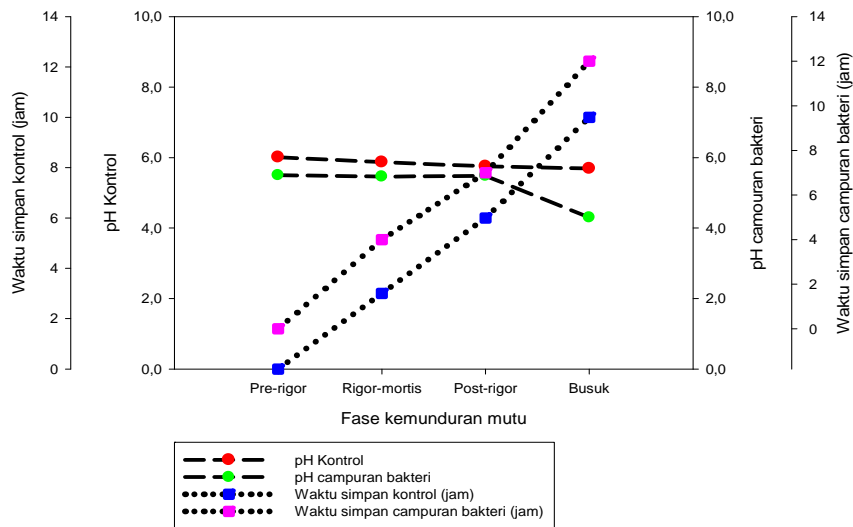
### **Penentuan Fase *Post Mortem* *Fillet* Ikan Nila Merah dengan Parameter Uji Organoleptik dan Ph *Fillet* Ikan Nila Merah**

Penentuan fase *post mortem* ikan dilakukan untuk mengetahui serta mengenali kondisi tingkat kesegaran ikan pada beberapa fase *post mortem*. Setelah ikan mati, ikan mengalami kemunduran mutu meliputi fase *pre rigor* (*hiperaemia*), *rigor mortis*, *post rigor* dan busuk (Junianto 2003). *Fillet* ikan nila merah pada (penyimpanan jam ke-0), masih berada dalam kondisi segar atau disebut fase *pre rigor* (*hiperaemia*) yakni terjadi pada jam ke-0 pada kedua perlakuan. Pada fase ini ikan secara fisik memiliki nilai organoleptik berkisar pada selang kepercayaan 9,00 pada kedua perlakuan kontrol dan campuran bakteri berdasarkan pengujian bagi nilai tengah pada selang kepercayaan 95 % dapat disimpulkan bahwa *fillet* ikan nila merah pada fase ini memiliki nilai rata-rata organoleptik sebesar 8,00.

Nilai organoleptik ikan selar di atas, sesuai dengan kondisi ikan segar pada umumnya yang memiliki nilai organoleptik rata-rata 8,00-9,00 (BSN 2006). Untuk parameter pH, *fillet* ikan nila merah memiliki nilai rata-rata sebesar  $6,01 \pm 0,01$  (kontrol) dan  $5,50 \pm 0,01$  (campuran bakteri). Nilai pH pada penelitian ini sesuai dengan pendapat Yunizal dan Wibowo (1998) yang mengatakan bahwa ikan yang baru mati umumnya mempunyai pH netral, yakni sekitar 6,0-7,0.

Fase *rigor mortis* terjadi setelah tiga jam penyimpanan (kontrol) dan empat jam penyimpanan pada campuran bakteri, yang ditandai dengan rata-rata nilai organoleptik dan pH yang sedikit menurun, masing-masing sebesar 7,00 (kontrol) dan (campuran bakteri). Sedangkan nilai pH masing-masing  $5,87 \pm 0,07$  (kontrol) dan  $5,46 \pm 0,02$  (campuran bakteri). Penurunan nilai pH pada kondisi *rigor mortis* ini terjadi akibat proses glikolisis yang mengubah glikogen dalam tubuh ikan menjadi asam laktat. Asam laktat yang terbentuk mengakibatkan nilai pH *fillet* ikan nila merah. Nilai pH minimal yang dapat tercapai setelah ikan mati tergantung dari cadangan glikogen yang terdapat di dalam daging ikan (Rahayu *et al.* 1992). Akhir dari fase *rigor mortis* merupakan awal dari proses *post rigor*.

Pada fase ini terjadi proses autolisis. Biasanya proses autolisis akan selalu diikuti dengan meningkatnya jumlah mikroba, sebab semua hasil penguraian enzim selama proses autolisis merupakan media yang cocok bagi pertumbuhan mikroba (Rahayu *et al.* 1992). Fase *post rigor* terjadi pada jam ke-6 (kontrol) dan jam ke-7 (campuran bakteri). Pada fase ini nilai uji organoleptik masing-masing sebesar 4,00 (kontrol) dan 5,00 (campuran bakteri).



Gambar 2 Laju Kemunduran Mutu *Fillet* Ikan Nila Merah pada Campuran Bakteri dan Kontrol (Parameter Pengamatan: Ph dan Waktu Penyimpanan)

Nilai pH masing-masing  $5,75 \pm 0,01$  (kontrol) dan  $5,48 \pm 0,01$  (campuran bakteri). Fase busuk terjadi pada jam ke-10 (kontrol) dan ke-12 (campuran bakteri). *Fillet* ikan nila merah memiliki nilai uji organoleptik masing-masing sebesar 3,00 (kontrol) dan 5,00 (campuran bakteri). Sedangkan nilai pH masing-masing  $5,09 \pm 0,03$  (kontrol) dan  $4,30 \pm 0,03$  (campuran bakteri). Penurunan nilai pH pada perlakuan campuran bakteri menunjukkan bahwa campuran bakteri mampu menghambat laju kemunduran mutu *fillet* lebih lama.

### Nilai TVBN dan TPC

*Total Volatile Base* (TVB) nitrogen merupakan indikator kesegaran ikan yang didasarkan pada terbentuknya senyawa-senyawa basa dan amin. Senyawa amin merupakan hasil dekarboksilasi asam amino dan reduksi TMAO. Tingkat kesegaran hasil perikanan berdasarkan TVBN dikelompokkan menjadi empat (Farber Dalam Borgstorm, 2005), yaitu: a) ikan sangat segar dengan kadar TVBN 10 mg N/ 100 g atau lebih kecil; b) ikan segar 10-20 mg N/100 g; c) ikan yang masih dapat dikonsumsi 20-30 mg N/100 g; d) ikan busuk yang tidak dapat dikonsumsi dengan kadar lebih besar dari 30 mg N/100 g.

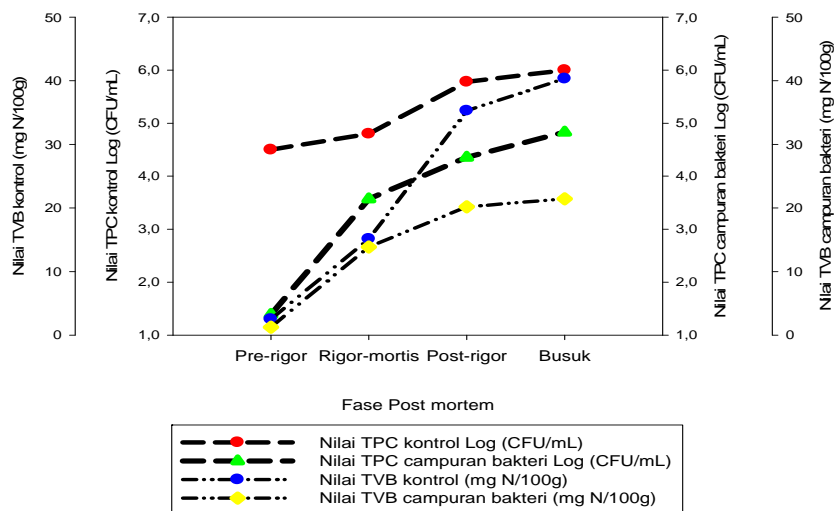
Secara biokimiawi nilai TVBN pada saat *pre rigor* pada perlakuan kontrol dan campuran bakteri masing-masing sebesar  $2,50 \pm 0,07$  mg N/100 g dan  $1,26 \pm 0,02$  mg N/100 g. Seiring berjalannya masa *post mortem*, *fillet* ikan nila merah pada fase *rigor mortis* memiliki nilai TVBN sebesar  $15,12 \pm 0,01$  mg N/100 g (kontrol) dan  $13,86 \pm 0,10$  (kotail) mg N/100 g. Memasuki fase *post rigor* nilai TVBN terus mengalami peningkatan yakni mencapai  $35,29 \pm 0,01$  mg N/100 g (kontrol) dan  $20,17 \pm 0,17$  (kotail) mg N/100 g. Pada fase busuk nilai TVBN perlakuan kontrol sangat besar yakni mencapai  $40,34 \pm 0,15$  mg N/100 g, sedangkan pada perlakuan campuran bakteri nilai TVBN *fillet* ikan nila merah jauh lebih rendah dibandingkan dengan kontrol yakni  $21,43 \pm 0,14$  mg N/100 g. Nilai ini sesuai dengan klasifikasi Farber dalam Borgstorm (2005), yaitu pada saat *pre rigor* hingga busuk nilai TVBN yang dihasilkan sebesar 10 mg N/100 g sampai dengan  $>30$  mg N/100 g. Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa perlakuan campuran bakteri yang diberikan pada *fillet* ikan nila merah sangat mempengaruhi laju kemunduran mutu *fillet*.

Prinsip kerja analisis TPC adalah penghitungan jumlah bakteri yang ada di dalam sampel (daging ikan) dengan pengenceran sesuai keperluan dan dilakukan secara *duplo*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada kontrol (perendaman dalam jus wortel tidak mengandung campuran bakteri BAL), *fillet* ikan nila pada fase *pre rigor* memiliki nilai TPC sebesar  $4,50 \pm 0,16$  log (CFU/mL), sedangkan untuk *fillet* ikan nila yang mengandung campuran bakteri BAL nilai TPC sebesar  $1,39 \pm 0,00$  log (CFU/mL). Pada fase *rigor mortis* nilai TPC mengalami peningkatan, yakni  $4,80 \pm 0,07$  log (CFU/mL) (kontrol), dan  $3,57 \pm 0,04$  log (CFU/mL) (campuran bakteri). Fase *post mortem* merah nilai TPC *fillet* ikan nila terus mengalami kenaikan yakni  $5,78 \pm 0,10$  log (CFU/mL) (kontrol) dan  $4,36 \pm 0,05$  log (CFU/mL) (campuran bakteri). Pada kondisi busuk perlakuan kontrol memiliki nilai TPC sangat tinggi mencapai  $6,00 \pm 0,07$  log (CFU/mL), sedangkan perlakuan campuran bakteri hanya mencapai  $4,83 \pm 0,03$  log (CFU/mL).

Tabel 2 Hubungan Fase *Post Mortem*, TVB, dan TPC *Fillet* Ikan Nila Merah

Fase <i>Post mortem</i>	Waktu simpan (jam)		Rata-rata nilai TVB (mg N/100g)		Rata-rata nilai TPC Log (CFU/mL)	
	Kontrol	Campuran bakteri	Kontrol	Campuran bakteri	Kontrol	Campuran bakteri
<i>Pre rigor</i>	0	0	$2,50 \pm 0,07$	$1,26 \pm 0,02$	$4,50 \pm 0,16$	$1,39 \pm 0,00$
<i>Rigor mortis</i>	3	4	$15,12 \pm 0,01$	$13,86 \pm 0,10$	$4,80 \pm 0,07$	$3,57 \pm 0,04$
<i>Post rigor</i>	6	7	$35,29 \pm 0,01$	$20,17 \pm 0,17$	$5,78 \pm 0,10$	$4,36 \pm 0,05$
Busuk	10	14	$40,34 \pm 0,15$	$21,43 \pm 0,14$	$6,00 \pm 0,07$	$4,83 \pm 0,03$

Keterangan: data disajikan purata  $\pm$  standar deviasi



Gambar 3 Laju kemunduran mutu *fillet* ikan nila merah pada campuran bakteri dan kontrol (parameter pengamatan: nilai TVBN dan TPC)



Pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa nilai log TPC *fillet* ikan nila merah di mana dengan perlakuan perendaman dalam jus wortel yang mengandung campuran bakteri BAL mampu menghambat laju pertumbuhan bakteri pembusuk yang terdapat pada *fillet* ikan nila merah. Penghambatan yang terjadi diduga disebabkan oleh sifat antagonis yang dimiliki oleh BAL untuk menekan pertumbuhan bakteri pembusuk. Selain itu metabolit primer yang mungkin diproduksi oleh campuran bakteri BAL diduga mampu menyebabkan pengasaman sitoplasma sel bakteri pembusuk sehingga mengalami kematian. Kompetisi sumber protein juga mempengaruhi laju pertumbuhan patogen, dimana BAL mampu menghambat bakteri pembusuk untuk memperoleh nutrisi untuk berkembang.

## SIMPULAN

Bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik adalah campuran bakteri BAL dan *L. acidophilus*. Campuran bakteri BAL memiliki efektivitas penghambatan yang baik terhadap laju kemunduran *fillet* ikan nila merah hingga 12 jam penyimpanan sedangkan kontrol lebih cepat hanya 10 jam penyimpanan. Analisis organoleptik menunjukkan bahwa perlakuan campuran bakteri memberikan daya penerimaan yang baik terhadap mutu *fillet* ikan nila merah sedangkan perlakuan kontrol kurang diterima. Nilai pH, TVB, dan TPC perlakuan campuran bakteri menunjukkan hasil yang lebih baik bila dibandingkan dengan kontrol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Pre'vost, H., Dousset, X., Zagorec, M., *et al.* (2005). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *J. Food Microbiology*, 22 : 373–382.
- Ammor, S., Gre'goire Tauveron, Eric Dufour, Isabelle Chevallier. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1—Screening and characterization of the antibacterial compounds. *J. Food Control* 17: 454–461.
- Barefoot, S. F. dan Nettles C. G. (1993). Antibiotics Revisited; Bacteriocins Produced by Dairy Starter Cultures. *J. dairy Sci* 76: 2366–79.
- Bodade, R. G., Borkar, P. S., Arfee, S, Khobragade, C. N. (2008). In vitro screening of bryophytes for antimicrobial activity. *J. Med Plants* 7: 23-28.
- Buckle, K. A. (1987). *Ilmu Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Borgstorm, G. (2005). *Fish as Food Vol IV*. New York: Academic Press.
- Garriga, M., Aymerich, H. M., Monfort, J. M. (1993). Bacteriocinogenic activity of lactobacilli from fermentor sausages. *J. Appl Bacteria* 75: 142-148. DOI: 10.1111/j. 1365-2672.1993.tb02759.x.
- Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organism. *Am J Clin Nutr* 73: 374-379

- Holzapfel, W. H., Geisen, R., Schillinger, U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International J. Food Microbiol* 24: 343-362.
- Jack, R. W., Tagg, J. R., Ray, B. (1995). Bacteriocin of Gram Positive Bacteria. *Microbial Rev*, 59: 171-200.
- Jenie, B. S. L., Rini, S. E. (1995). Aktivitas Antibakteri dari Beberapa Spesies *Lactobacillus* terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan. *Buletin Teknologi dan Industri Makanan*.
- Junianto. (2003). *Teknik Penanganan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Oyetayo, V. O., Adetuyi, F. C., Akinyosoye, F. A. (2003). Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent in vitro. *Afric J. Biotechnol* 2: 448-452
- Rahayu *et al.* (2003). *Teknologi Fermentasi*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Rostini, I. (2007). *Peranan Bakteri Asam Laktat (Lactobacillus plantarum) Terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah Pada Suhu Rendah*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatinangor: Universitas Padjadjaran.
- Setyawardani, T. (2012). *Karakteristik dan pemanfaatan BAL asal susu kambing untuk pembuatan keju probiotik*. Bogor: Disertasi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Steel R. G. D., Torrie, J. H. (1980). *Principles and Procedures of Statistics, Second Edition*. New York: McGraw-Hill Book Co.
- Surono I. S. (2004). *Probiotik. Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya (TRICK).
- Uyanto, S. S. (2009). *Pedoman Analisis Data dengan SPSS*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Yulinery T, Petria I. Y., Nurhidayat, N. (2009). Penggunaan antibakteri dari isolat *Lactobacillus* terseleksi sebagai bahan pengawet alami untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada ikan kakap. *J. Biology Researchers*, 15: 85-92)
- Yunizal, Wibowo, S. (1998). *Penanganan Ikan Segar*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan.