



Biopreservasi Santan Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Dengan Serbuk Bakteriosin Dari *Lactobacillus plantarum*

Biopreservation of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Milk With Bacteriocin Powder From *Lactobacillus plantarum*

Lisbeth Bernike Astari Nugroho¹, F. Sinung Pranata¹, LM. Ekawati Purwijantiningsih^{1*}

¹Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta

Jl. Babarsari No. 44 Yogyakarta, Indonesia

Email: ekawati.purwijantiningsih@uajy.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Coconut milk is a food product processed from squeezed coconut meat which is usually widely used in various foods and beverages. However, coconut milk lacks long preserving time. Therefore, it is necessary to preserve coconut milk naturally, one of which is using bacteriocin from *Lactobacillus plantarum*. The aims of the study are to determine the role of bacteriocin powder from *L. plantarum* FNCC 0027 as a coconut milk bio preservative and to decide the optimal bacteriocin powder concentration from *L. plantarum* in maintaining the coconut milk quality. The method is an experimental design with a completely randomized factorial design using two factors. They are the addition of bacteriocins (0, 2.5, 5, and 7.5%) and storage time (0, 8, 16, and 24 hours) at room temperature with three replications. This study showed that bacteriocin powder from *L. Plantarum* could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. In addition, bacteriocin of *L. plantarum* can become coconut milk biopreservative. Bacteriocin powder of *L. plantarum* had a significant effect on the results of the total viable count, the number of coliforms, protein, water and pH of coconut milk, and it did not affect the coconut milk color. Bacteriocin powder from *L. plantarum* with a concentration of 5% was the most optimal treatment for maintaining the coconut milk quality.

Keywords: bacteriocin, biopreservation, coconut milk, food product, *Lactobacillus plantarum*

Abstrak

Santan kelapa merupakan bahan pangan hasil olahan dari daging buah kelapa yang diperas dengan penambahan air. Santan kelapa biasanya banyak dimanfaatkan sebagai campuran berbagai makanan dan minuman, namun santan kelapa memiliki kelemahan yaitu memiliki umur simpan pendek. Oleh karena itu, perlu adanya pengawetan santan kelapa secara alami yaitu salah satunya menggunakan bakteriosin dari *L. plantarum*. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui peran serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* FNCC 0027 sebagai biopreservatif santan kelapa dan mengetahui konsentrasi optimal serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* untuk mempertahankan kualitas santan kelapa. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan menggunakan dua faktor yaitu penambahan bakteriosin (0, 2,5, 5 dan 7,5%) dan lama penyimpanan (0, 8, 16 dan 24 jam) pada suhu ruang dengan tiga kali pengulangan. Penelitian ini memberikan hasil bahwa serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selain itu, bakteriosin *L. plantarum* mampu berperan sebagai biopreservatif santan kelapa. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* memiliki pengaruh beda nyata terhadap hasil angka lempeng total, jumlah *coliform*, kadar protein, kadar air dan pH santan kelapa, serta tidak berpengaruh terhadap warna santan kelapa. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* dengan konsentrasi 5% merupakan perlakuan yang optimal dalam mempertahankan kualitas santan kelapa.

Kata Kunci: bahan pangan, bakteriosin, biopreservasi, *Lactobacillus plantarum*, santan kelapa

Pendahuluan

Santan kelapa adalah cairan putih hasil dari perasan daging kelapa yang diparut dengan penambahan air dan biasanya dimanfaatkan untuk berbagai campuran masakan dan minuman. Namun, santan memiliki kelemahan yaitu mudah rusak sehingga santan memiliki masa simpan pendek (Srihari *et al.*, 2010), yakni sekitar 8 jam pada suhu ruang (Rosida *et al.*, 2013). Kerusakan santan segar dapat diakibatkan karena pertumbuhan mikrobia, cahaya, oksigen, dan temperatur tinggi (Rosida *et al.*, 2013).

Teknik pengawetan perlu dilakukan untuk memperpanjang masa simpan santan. Selama ini, cara yang dilakukan untuk memperpanjang masa simpan santan kelapa oleh kalangan industri yaitu dengan cara pasteurisasi, penambahan natrium bisulfit, serta penyinaran ultraviolet. Namun cara tersebut mempunyai kelemahan yaitu memengaruhi komposisi nutrisi pada produk pangan (Gea *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu alternatif cara untuk memperpanjang masa simpan santan secara alami yakni dengan menggunakan serbuk bakteriosin.

Bakteriosin adalah senyawa protein yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) dan memiliki aktivitas antimikrobia sehingga dapat diaplikasikan sebagai pengawet alami pada bahan pangan (Sifour *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian Suwayvia (2017), diketahui bahwa bakteriosin dari *L. plantarum* pada suhu ruang mampu menghambat bakteri Gram negatif dan positif seperti *E. coli* dan *S. aureus*. Selain itu, *L. plantarum* memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri patogen dengan daerah penghambatan yang besar dibandingkan BAL lainnya (Anas *et al.*, 2008). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui peran serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* sebagai biopreservatif santan kelapa dan mengetahui konsentrasi optimal serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* untuk mempertahankan kualitas santan kelapa.

Metode Penelitian

Pemurnian dan karakterisasi isolat *L. plantarum*

Isolat *L. plantarum* FNCC 0027 sebanyak 1 mL diambil kemudian diinokulasikan ke dalam 9 mL MRSB, selanjutnya medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat *L. plantarum* diambil sebanyak 1 ose, kemudian diinokulasikan pada MRS agar yang telah ditambahkan larutan CaCO₃ dengan metode *streak plate* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni tunggal yang terbentuk dikarakterisasi dengan uji pengecatan Gram, motilitas dan katalase (Yusmarini *et al.*, 2017).

Produksi ekstrak bakteriosin

Biakan *L. plantarum* sebanyak 10 mL diambil dan dimasukkan dalam 90 mL medium MRSB, selanjutnya medium diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur disentrifugasi selama 10 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 10000 rpm. Setelah itu, supernatan dipisahkan dari pellet dan supernatan ini disebut ekstrak bakteriosin (Usmiati & Tri, 2007 dengan modifikasi).

Purifikasi parsial bakteriosin menggunakan ammonium sulfat

Supernatan ekstrak bakteriosin ditambahkan serbuk ammonium sulfat 1%. Setelah itu, dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam *microtube*. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm pada suhu 4 °C selama 20 menit (Todorov & Dicks, 2005).

Mikroenkapsulasi bakteriosin

Ekstrak cair bakteriosin sebanyak 40% dienkapsulasi menggunakan campuran pengkapsul yaitu susu skim sebanyak 16,67% (33,34 g) dan maltodekstrin sebanyak 83,33% (166,66 g). Campuran pengkapsul dilarutkan dengan akuades sebanyak 720 mL dan didapatkan 1.000 mL larutan. Setelah itu, dilakukan homogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* selama 45 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Campuran disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C agar komponen pengkapsul terhidrasi maksimal sehingga ekstrak bakteriosin mudah masuk ke dalam bahan pengkapsul. Campuran dihomogenisasi

menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit 24 dengan kecepatan 5000 rpm. Selanjutnya, campuran dimasukkan dalam *chamber spray drying*. Pengeringan dilakukan pada suhu 100-110°C (suhu *inlet*), suhu 70-80°C (suhu *outlet*) dan laju aliran 20 mL/menit. Proses pengeringan ini dilakukan hingga kadar air bubuk ekstrak bakteriosin diperoleh maksimal 0,2-0,4% (Usmiati & Rahayu, 2011 dengan modifikasi).

Uji daya hambat serbuk bakteriosin

Uji daya hambat bakteriosin dilakukan menggunakan metode difusi agar sumuran dengan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *pour plate* dengan cara bakteri uji diambil sebanyak 1000 µl lalu ditambahkan medium NA sebanyak 20 ml. Pada medium dibuat sumuran dengan menggunakan sedotan steril yang memiliki diameter 5 mm dengan letak saling berjauhan. Supernatan dan serbuk bakteriosin *L. plantarum* kemudian dimasukkan ke dalam sumuran masing-masing sebanyak 100µl dan 1 gram. Cawan petri lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran diukur dengan menggunakan penggaris (Abel *et al.*, 2014).

Proses pembuatan dan penyimpanan santan kelapa

Pembuatan santan kelapa berasal dari daging buah kelapa tua. Kriteria kelapa tua yang digunakan yaitu buah berbentuk bulat, utuh, segar, kulit ari berwarna coklat tua, daging buah berwarna putih susu, tebal dan tidak berlendir. Santan kelapa dibuat dengan cara buah kelapa dikupas dan kulit ari dihilangkan, kemudian buah kelapa diparut menggunakan parutan kayu. Hasil parutan kelapa ditambah air menggunakan perbandingan 1:1 dan diperas secara manual, selanjutnya disaring menggunakan saringan dan cairan putih hasil perasan disebut santan. Santan ditambahkan CMC sebanyak 0,8% dari volume santan dan CMC berfungsi sebagai penstabil. Serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* sesuai dengan konsentrasi yakni 0%; 2,5%: 5% dan 7,5% dimasukkan ke dalam santan kelapa yang diletakkan pada baskom dan ditutup menggunakan plastik. Santan kelapa perlakuan

disimpan pada suhu ruang $\pm 25^{\circ}\text{C}$ dan setiap jam ke-0, 8, 16 dan 24 jam diamati serta dilakukan uji kualitas santan kelapa (Iswanto, 2009).

Uji kualitas santan kelapa

Uji kualitas santan kelapa meliputi analisis mikrobiologis, kimia, fisik dan organoleptik. Analisis mikrobiologis meliputi angka lempeng total, jumlah *coliform* dan *S. aureus* (Badan Standarisasi Nasional, 2011). Analisis kimia meliputi kadar air (Indrawati dan Rosliani, 2010), kadar protein dengan metode semi-mikro Kjeldhal (Sudarmadji *et al.*, 1997), pH (AOAC, 2000), kadar lemak metode Rose-Gottlieb (Wulandari., 2017), dan pH (AOAC, 2000). Analisis fisik meliputi uji warna dengan *Color Reader* (deMan, 1997), serta uji organoleptik meliputi parameter warna dan aroma.

Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan menggunakan dua faktor yaitu penambahan bakteriosin (0%, 2,5%, 5% dan 7,5%) dan lama penyimpanan (0, 8, 16 dan 24 jam) pada suhu ruang dengan tiga kali pengulangan, kecuali pengukuran kadar lemak dan protein dilakukan pada hari ke-0 dan 24. Analisis data dilakukan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nyata pada perlakuan. Jika didapati perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis data ini dilakukan menggunakan program SPSS16.0.

Hasil dan Pembahasan

Pemurnian Isolat BAL *L. plantarum*

Pemurnian isolat ini menggunakan medium MRSA dengan penambahan CaCO_3 1%. Pemurnian isolat ini dilakukan dengan menggunakan metode *streak plate* untuk mendapatkan koloni tunggal BAL *L. plantarum* (Gambar 1).



Gambar 1. Koloni BAL *L. plantarum* dengan zona bening

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa koloni tersebut memiliki ciri-ciri berwarna putih dan mengkilap, bentuk bulat, tepi rata (*entire*) dan elevasi cembung (*convex*). Hasil yang diperoleh dari pengamatan ini sesuai dengan penelitian Nur *et al.*, (2015) yang mengemukakan bahwa *L. plantarum* memiliki ciri-ciri koloni kecil, bulat, berwarna

putih susu, elevasi cembung, tepi rata, dan permukaan berkilau.

Karakterisasi BAL *L. plantarum*

Hasil karakterisasi isolat *L. plantarum* yang dilakukan meliputi uji pengecatan Gram, motilitas serta uji katalase (Tabel 1).

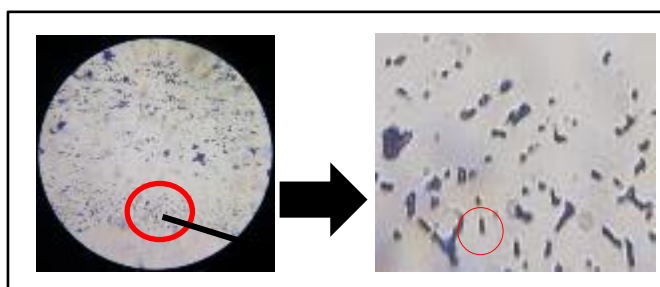
Tabel 1. Hasil Karakterisasi isolat bakteri asam laktat *L. plantarum*

Parameter	Hasil Karakterisasi
Pengecatan Gram	Ungu
Motilitas	Non motil
Katalase	Tidak ada gelembung (Negatif)

a. Pengecatan Gram

Uji pengecatan Gram *L. plantarum* ini dilakukan untuk mengetahui karakter dinding sel bakteri *L. plantarum* dalam

mengikat zat warna (Putri *et al.*, 2014). Hasil yang diperoleh berdasarkan uji pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengecatan Gram isolat *L. plantarum*

Berdasarkan hasil uji pengecatan Gram menunjukkan bahwa isolat *L. plantarum* memiliki bentuk basil atau batang dan merupakan bakteri Gram positif karena setelah dilakukan pengecatan Gram berwarna ungu. Hasil ini sesuai dengan teori menurut Pelczar dan Chan (2008), yang mengemukakan bahwa *L. plantarum* merupakan bakteri asam laktat

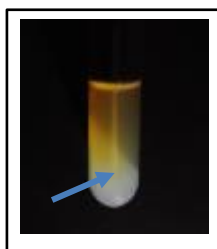
yang memiliki bentuk batang dan tergolong dalam bakteri Gram positif.

b. Uji Motilitas

Uji motilitas isolat *L. plantarum* bertujuan untuk mengetahui apakah *L. plantarum* bersifat motil atau non motil. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh hasil bahwa *L. plantarum* bersifat non

motil (Gambar 3) karena pertumbuhan bakteri di sekitar tusukan. Hasil tersebut sesuai dengan teori Pelczar dan Chan (2008) yang menyatakan

bahwa *L. plantarum* tergolong dalam bakteri bersifat non motil.

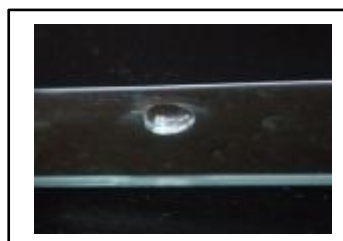


Gambar 3. Hasil uji motilitas isolat *L. plantarum*

c. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidak enzim katalase pada bakteri *L. plantarum*. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat *L. plantarum* bersifat katalase negatif. Hal tersebut

ditunjukkan dengan hasil uji katalase yang tidak membentuk gelembung ketika ditetaskan H_2O_2 (Gambar 4). Hasil tersebut sesuai dengan teori menurut Garrity (1984) yang mengemukakan bahwa BAL bersifat anaerob sehingga tidak dapat menguraikan H_2O_2 .

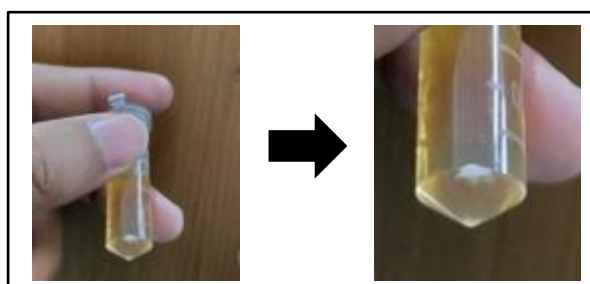


Gambar 4. Hasil uji katalase isolat *L. plantarum*

Purifikasi Ekstrak Bakteriosin dengan Amonium Sulfat

Purifikasi ekstrak bakteriosin *L. plantarum* bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak bakteriosin yang dihasilkan dari *L. plantarum* ini merupakan molekul protein.

Endapan protein dari ekstrak bakteriosin *L. plantarum* yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 5. Pengendapan protein ini dapat disebabkan karena adanya proses *salting out* antara protein dan garam yang dapat mengikat air (Basarang, 2013).



Gambar 5. Endapan protein hasil purifikasi parsial ekstrak bakteriosin *L. plantarum*

Penghambatan Bakteriosin terhadap Bakteri Patogen *E. coli* dan *S. aureus*

Aktivitas hambat ekstrak bakteriosin terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan uji zona hambat

menggunakan metode difusi agar sumuran. Hasil luas zona hambat bakteriosin terhadap bakteri patogen *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 2 dan luas zona hambat bakteriosin terhadap bakteri patogen *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Luas Zona Hambat terhadap Bakteri *E. coli*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (cm ²)
Bakteriosin Cair 0%	0 ^a
Bakteriosin Cair 100%	0,87 ^b
Bakteriosin Serbuk 0%	0 ^a
Bakteriosin Serbuk 100%	2,84 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

Tabel 3. Luas Zona Hambat terhadap Bakteri *S. aureus*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (cm ²)
Bakteriosin Cair 0%	0 ^a
Bakteriosin Cair 100%	1,27 ^b
Bakteriosin Serbuk 0%	0 ^a
Bakteriosin Serbuk 100%	2,11 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa bakteriosin serbuk memiliki luas zona hambat yang lebih besar dibandingkan bakteriosin cair baik terhadap bakteri uji *E. coli* maupun *S. aureus*. Hal tersebut disebabkan bakteriosin serbuk berdifusi secara berkelanjutan pada target sehingga kontak dengan target lebih lama (Zohri *et al.*, 2013). Selain itu, bakteriosin terdapat bahan penyalut sebagai *carrier* pembawa dan pelindung, sehingga lebih memudahkan untuk kontak dengan target (Kailasapathy, 2002). Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, hasil luas zona hambat bakteriosin *L. plantarum* terhadap *E. coli* lebih besar dibandingkan *S. aureus*. Hal ini dapat disebabkan adanya perbedaan dinding sel yang dimiliki oleh bakteri Gram negatif (*E. coli*) dan Gram positif (*S. aureus*) (Prescott *et al.*, 2002).

Kualitas Mikrobiologis Santan Kelapa Selama Penyimpanan

a. Perhitungan ALT (angka lempeng total)

Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda

nyata terhadap ALT santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan penyimpanan (Tabel 4). Menurut standar SNI 01-3816-1995, syarat mutu ALT santan yaitu maksimal 5 log CFU/mL. Penambahan serbuk bakteriosin menunjukkan kemampuan dalam meminimalkan jumlah mikrobia.

Selama penyimpanan, jumlah ALT semakin meningkat hingga melebihi syarat mutu SNI. Hal tersebut disebabkan selama penyimpanan, terjadi pertumbuhan mikrobia pada santan kelapa (Candra *et al.*, 2014). Pada jam ke-8, nilai ALT pada perlakuan kontrol sudah tidak memenuhi standar SNI, sedangkan penambahan serbuk bakteriosin sebanyak 5% dan 7,5% dapat memperpanjang masa simpan santan kelapa sampai jam ke-16. Perlakuan penambahan serbuk 5% merupakan perlakuan yang optimal karena mampu meminimalkan nilai ALT santan selama penyimpanan dan bakteriosin sudah mampu berikatan secara optimal dengan reseptor membran sel bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikrobia.

Tabel 4. Jumlah ALT (log CFU/mL) santan dengan dan tanpa penambahan bakteriosin selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)				Rata-rata
	0	8	16	24	
Bakteriosin 0%	4,47 ^{bc}	7,32 ^g	7,45 ^g	7,53 ^g	6,41 ^A
Bakteriosin 2,5%	4,19 ^{ab}	5,5 ^e	6,93 ^f	7,46 ^g	6,02 ^B
Bakteriosin 5%	4,17 ^{ab}	4,87 ^d	4,92 ^d	5,52 ^e	4,95 ^C
Bakteriosin 7,5%	3,90 ^a	4,74 ^{cd}	4,99 ^d	5,54 ^e	4,79 ^D
Rata-rata	4,18 ^W	5,61 ^X	6,07 ^Y	6,51 ^Z	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

b. Perhitungan Jumlah *Staphylococcus aureus*

Menurut standar SNI 01-3816-1995, jumlah koloni *S. aureus* pada santan kelapa maksimal 2 log CFU/mL. Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap jumlah *S. aureus* santan kelapa (Tabel 5). Santan kelapa dengan penambahan serbuk bakteriosin 5% merupakan perlakuan yang optimal dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal tersebut dikarenakan pada perlakuan serbuk bakteriosin 5% mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan memiliki jumlah koloni *S. aureus* paling sedikit. Jumlah *S. aureus* yang tidak memenuhi syarat mutu SNI pada penyimpanan jam ke-24 ini masih tergolong tidak berbahaya karena untuk menghasilkan enterotoksin jumlah minimum *S. aureus* yaitu 1×10^5 CFU/mL (Salasia *et al.*, 2009).

Tabel 5. Jumlah koloni *S. aureus* (log CFU/mL) santan kelapa dengan dan tanpa penambahan bakteriosin selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)				Rata-rata
	0	8	16	24	
Bakteriosin 0%	0,56 ^a	2,65 ^a	2,8 ^a	3,00 ^a	2,25 ^B
Bakteriosin 2,5%	0,33 ^a	2,19 ^a	2,65 ^a	2,80 ^a	1,99 ^B
Bakteriosin 5%	0,56 ^a	1,25 ^a	1,74 ^a	2,57 ^a	1,53 ^A
Bakteriosin 7,5%	0,97 ^a	1,71 ^a	1,94 ^a	2,61 ^a	1,81 ^{AB}
Rata-rata	0,61 ^W	1,95 ^X	2,28 ^X	2,75 ^Y	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

c. Perhitungan Jumlah *Coliform*

Menurut SNI 01-3816-1995, syarat mutu jumlah MPN pada santan kelapa maksimal 10 APM/mL. Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap jumlah *coliform* santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan penyimpanan. Hasil uji jumlah *coliform* semakin meningkat seiring dengan waktu penyimpanan (Tabel 6). Hasil uji *coliform* dengan penambahan serbuk bakteriosin 5% merupakan yang optimal dalam menghambat dengan pertumbuhan mikrobia.

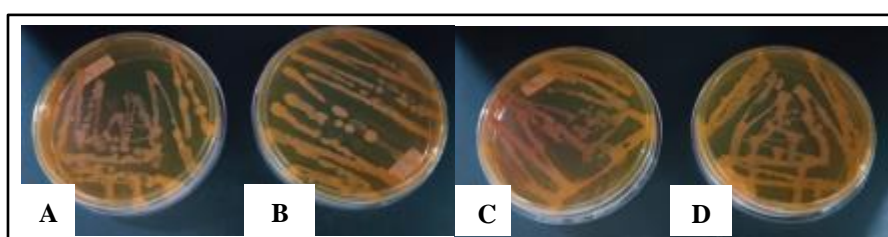
Serbuk bakteriosin 5 % dan 7,5% dapat memperpanjang masa simpan santan kelapa sampai jam ke-16.

Hasil uji *coliform* kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan medium L-EMBA untuk mengetahui kemungkinan santan kelapa positif tercemar *E. coli* atau tidak. Berdasarkan hasil yang diperoleh, hasil uji lanjutan MPN menunjukkan hasil yang negatif karena tidak ditemukan koloni berwarna hijau metalik (Gambar 11). Hal ini berarti pada santan kelapa tidak dijumpai *E. coli* selama penyimpanan hingga 24 jam.

Tabel 6. Jumlah *coliform* (APM/mL) santan kelapa dengan dan tanpa penambahan bakteriosin selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)				Rata-rata
	0	8	16	24	
Bakteriosin 0%	0 ^a	6,5 ^b	12,33 ^c	36,67 ^e	13,88 ^C
Bakteriosin 2,5%	0 ^a	6,13 ^b	11,40 ^c	17,33 ^d	8,72 ^B
Bakteriosin 5%	0 ^a	3,6 ^{ab}	6,57 ^b	14,67 ^{cd}	6,21 ^A
Bakteriosin 7,5%	0 ^a	3,0 ^{ab}	6,17 ^b	12,13 ^c	5,33 ^A
Rata-rata	0 ^W	4,81 ^X	9,12 ^Y	20,2 ^Z	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

**Gambar 11.** Hasil negatif uji lanjutan MPN dengan dan tanpa perlakuan penambahan serbuk bakteriosin (A) Bakteriosin 0%, (B) Bakteriosin 2,5% (C) Bakteriosin 5%, (D) Bakteriosin 7,5%.

Kualitas Kimia Santan Kelapa Selama Penyimpanan

a. Kadar Air

Menurut standar SNI 01-3816-1995, kadar air santan kelapa maksimal 50% (Badan Standarisasi Nasional, 1995), sedangkan berdasarkan standar Codex CXS 240-2003,

kadar air santan kelapa maksimal 87,3% (Codex alimentarius, 2003). Kadar air santan kelapa dengan penambahan ataupun tanpa penambahan bakteriosin *L. plantarum* selama masa simpan berkisar antara 70,25% - 78,25% (Tabel 7). Kadar air tersebut melebihi standar yang ditetapkan SNI tetapi masih memenuhi standar Codex CXS 240-2003.

Tabel 7. Kadar air (%) santan kelapa dengan dan tanpa penambahan bakteriosin selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)				Rata-rata
	0	8	16	24	
Bakteriosin 0%	70,49 ^a	74,24 ^c	75,52 ^{de}	78,25 ^f	74,63 ^B
Bakteriosin 2,5%	70,27 ^a	73,93 ^c	75,21 ^d	78,21 ^f	74,41 ^B
Bakteriosin 5%	70,25 ^a	72,19 ^b	74,22 ^c	75,73 ^{de}	73,09 ^A
Bakteriosin 7,5%	70,31 ^a	72,08 ^b	74,23 ^c	75,82 ^e	73,11 ^A
Rata-rata	70,33 ^W	73,11 ^X	74,79 ^Y	77,01 ^Z	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap kadar air santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan penyimpanan (Tabel 7). Perlakuan penambahan serbuk bakteriosin 5% merupakan perlakuan yang paling optimal. Hasil ini dapat

dikaitkan dengan hasil ALT perlakuan serbuk bakteriosin 5% menunjukkan jumlah ALT yang paling rendah.

b. Kadar Protein

Hasil kadar protein santan kelapa pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan penelitian yang dilakukan Budianta *et.al.*,

(2009) bahwa santan kelapa memiliki kadar protein sebesar 3,57%, sedangkan berdasarkan standar SNI 01-3816-1995 kadar protein minimal 3 %. Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap kadar protein santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan penyimpanan (Tabel 8).

Kadar protein selama penyimpanan mengalami penurunan. Hal tersebut sesuai

dengan teori menurut Candra *et al.*, (2014), yang menyatakan bahwa kadar protein selama penyimpanan mengalami penurunan dikarenakan adanya aktivitas metabolisme mikrobia untuk memanfaatkan protein yang semakin tinggi. Mikrobia akan menghasilkan enzim protease untuk mengkatalis reaksi hidrolisis protein menjadi asam amino.

Tabel 8. Hasil kadar protein (%) santan kelapa dengan dan tanpa penambahan serbuk bakteriosin selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)		Rata-rata
	0	24	
Bakteriosin 0%	3,79 ^{bc}	3,12 ^a	3,46 ^A
Bakteriosin 2,5%	3,94 ^{cd}	3,70 ^{bcd}	3,82 ^B
Bakteriosin 5%	4,00 ^{bcd}	3,82 ^b	3,91 ^B
Bakteriosin 7,5%	4,06 ^d	3,82 ^{bcd}	3,94 ^B
Rata-rata	3,95 ^Y	3,62 ^X	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

c. Kadar Lemak

Hasil kadar lemak santan kelapa pada penelitian ini menunjukkan kesesuaian dengan standar SNI 01-3816-1995 minimal 30%, baik dengan dan tanpa perlakuan penambahan serbuk bakteriosin. Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap kadar lemak

santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan penyimpanan (Tabel 9).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan penambahan serbuk bakteriosin 7,5% memiliki kadar lemak yang paling tinggi. Hasil kadar lemak selama penyimpanan pada penelitian ini mengalami penurunan. Penurunan kadar lemak santan kelapa ini disebabkan adanya hidrolisis lemak menjadi asam lemak bebas (Waisundara *et al.*, 2007).

Tabel 9. Hasil kadar lemak santan kelapa dengan dan tanpa penambahan serbuk bakteriosin *L. plantarum* selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)		Rata-rata
	0	24	
Bakteriosin 0%	39,92 ^a	36,67 ^a	38,29 ^A
Bakteriosin 2,5%	39,70 ^a	38,27 ^a	38,99 ^A
Bakteriosin 5%	41,75 ^a	41,25 ^a	41,50 ^B
Bakteriosin 7,5%	44,29 ^a	43,26 ^a	43,77 ^C
Rata-rata	41,42 ^Y	39,86 ^X	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

d. Uji pH

Menurut SNI 01-3816-1995, syarat pH santan kelapa yaitu minimal 5,9. Penambahan serbuk bakteriosin dan masa simpan menunjukkan hasil yang beda nyata terhadap pH santan kelapa, demikian juga interaksi antar faktor perlakuan dan

penyimpanan (Tabel 10). Selama penyimpanan, santan kelapa mengalami penurunan yang disebabkan karena terjadi pertumbuhan mikrobia penghasil asam akibat dari aktivitas mikrobia yang menghasilkan asam sehingga menyebabkan pH turun (Sukasih *et al.*, 2009).

Tabel 10. Derajat keasaman santan kelapa dengan dan tanpa penambahan serbuk bakteriosin *L. plantarum* selama penyimpanan

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)				Rata-rata
	0	8	16	24	
Bakteriosin 0%	7,43 ⁱ	5,82 ^e	5,65 ^{bc}	5,58 ^b	6,12 ^A
Bakteriosin 2,5%	7,34 ^h	6,10 ^f	5,68 ^{cd}	5,46 ^a	6,15 ^A
Bakteriosin 5%	7,24 ^g	6,12 ^f	6,05 ^f	5,64 ^{bc}	6,26 ^B
Bakteriosin 7,5%	7,25 ^{gh}	6,12 ^f	6,06 ^f	5,77 ^{de}	6,29 ^B
Rata-rata	7,32 ^w	6,04 ^x	5,86 ^y	5,61 ^z	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% pada uji DMRT

Kualitas Fisik Santan kelapa selama Penyimpanan

a. Uji Warna

Berdasarkan hasil uji warna dengan *color reader* dapat diketahui bahwa santan kelapa dengan dan tanpa perlakuan

menunjukkan warna putih dengan tidak mengalami perubahan warna secara signifikan (Tabel 11). Santan kelapa dengan perlakuan penambahan bakteriosin memiliki warna putih yaitu putih khas santan. Hasil ini dapat membuktikan bahwa dengan adanya penambahan serbuk bakteriosin tidak memberi pengaruh warna dan tetap mempertahankan warna santan kelapa.

Tabel 11. Hasil uji warna santan kelapa dengan *Color Reader*

Perlakuan	Masa Simpan (Jam)			
	0	8	16	24
Bakteriosin 0%	Putih	Putih	Putih	Putih
Bakteriosin 2,5%	Putih	Putih	Putih	Putih
Bakteriosin 5%	Putih	Putih	Putih	Putih
Bakteriosin 7,5%	Putih	Putih	Putih	Putih

b. Uji Organoleptik

Penambahan serbuk bakteriosin mampu mempertahankan kualitas organoleptik santan kelapa dilihat dari parameter warna dan aroma selama masa simpan. Penambahan

serbuk bakteriosin sebanyak 5% dan 7,5% lebih mampu mempertahankan kualitas santan kelapa dibandingkan dengan konsentrasi 2,5% dan 0% (Tabel 12).

Tabel 12. Hasil uji organoleptik santan kelapa selama penyimpanan

Perlakuan	Parameter	Masa Simpan (Jam)			
		0	8	16	24
Bakteriosin 0% (kontrol)	Warna	4	4	3	3
	Aroma	4	3	2	1
Bakteriosin 2,5%	Warna	4	4	4	3
	Aroma	4	3	3	2
Bakteriosin 5%	Warna	4	4	4	3
	Aroma	4	4	3	2
Bakteriosin 7,5%	Warna	4	4	4	3
	Aroma	4	4	3	2

Keterangan : 1 = aroma sangat tengik/warna kuning kecokelatan; 2 = aroma tengik/warna kuning; 3 = aroma sedikit tengik/ warna sedikit kuning; 4 = aroma khas santan/warna putih khas santan

Pengamatan secara organoleptik menunjukkan terjadi perubahan warna santan

kelapa selama masa simpan. Hal tersebut disebabkan oleh pengaruh kadar air yang

meningkat selama masa simpan (Arini, 2017). Adanya perubahan bau menjadi bau tengik santan kelapa selama penyimpanan dapat disebabkan karena aktivitas mikrobial lipolitik yang mampu memecah lemak. Perubahan aroma santan kelapa disebabkan oleh aktivitas mikrobial yang menggunakan protein untuk metabolisme sehingga mampu merombak protein (Buckle *et al.*, 1985).

SIMPULAN

Serbuk bakteriosin *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Serbuk bakteriosin dari *L. plantarum* mampu berperan sebagai biopreservatif santan kelapa dan memiliki pengaruh beda nyata terhadap hasil ALT, jumlah koloni *S. aureus*, jumlah *coliform*, kadar protein, kadar lemak, kadar air dan pH santan kelapa, serta tidak berpengaruh terhadap warna santan kelapa. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* dengan konsentrasi 5% merupakan perlakuan yang optimal dalam mempertahankan kualitas santan kelapa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abel, E. E., Poonga, P. R. J. & Panicker, S.G. (2014). Effects of different solvent extracts of *Cassia tora* leaves against Gram positive bacteria. *International Journal of Pharmacy and Life Science* 5(4): 3436–3439.
- Anas., Mami., Henni, Jamal, E. & Kihal, M. (2008). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World Journal of Dairy and Food Sciences* 3(2): 39-49.
- Arini, L. D. D. (2017). Faktor-faktor penyebab dan karakteristik makanan kadaluarsa yang berdampak buruk pada kesehatan masyarakat. *Jurnal JITIPARI* 3(2): 15-24.
- Badan Standarisasi Nasional. (1995). *SNI-1-3816-1995 Syarat Mutu Santan Cair*. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. (2011). *Cara Uji Mikrobiologi Bagian 9 : Penentuan Staphylococcus aureus pada Produk Perikanan*. www.sisni.bsn.ac.id.
- Basarang, M. (2013). *Pengaruh bakteriosin dari Streptococcus thermophilus sebagai*

pengawet terhadap lama penyimpanan dangke [Skripsi]. Universitas Hasanuddin Makassar.

- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H. & Wooton, M. (1985). *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Budianta, T.D.W., Soepardi, H.G., & Yulianan. (2009). Pengaruh kombinasi santan dan gula kelapa terhadap kualitas es krim susu kedelai. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 4(1): 8-19.
- Candra, F. N., Riyadi, P. H. & Wijayanti, I. (2014). Pemanfaatan karagenan (*Euchema cottoni*) sebagai emulsifier terhadap kestabilan bakso ikan nila (*Oreochromis nilotichus*) pada penyimpanan suhu dingin. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 3(1): 167-176.
- Codex. alimentarius (2003). Codex Standard for Aqueous Coconut Products CXS 240-2003. *Journal of Codex Stan* 240: 1-4.
- deMann, M. J. (1997). *Kimia Makanan*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Garrity, G. M. (1984). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 2 : the Proteobacteria*. Williams and Wilkins. New York
- Gea, S., Kerista, S. & Aththorick, T. A. (2016). Peningkatan kualitas produksi santan kelapa sebagai bahan baku industri kuliner di Kota Medan. *Abdimas Talenta* 1(1): 92-96.
- Indrawati, T. & Rosliani, S. (2010). Pembuatan granul ekstrak kering buah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl] dengan variasi konsentrasi absorben. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Saintech Farma* 1(1): 10-18
- Iswanto, B. (2009). *Pengaruh homogenisasi terhadap stabilitas emulsi santan awet dengan penambahan carboxymethylcellulose [Skripsi]*. Institut Pertanian Bogor.
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Current Issues Intestinal Microbiology* 3(2):39-48
- Nur, F., Hafsan. & Andi, W. (2015). Isolasi bakteri asam laktat berpotensi probiotik pada dangke, makanan tradisional dari susu kerbau di Curio kabupaten Enrekang.

- Jurnal Ilmiah Biologi BIOGENESIS* 3(1): 60-65.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Prescott, L. M., Horley, J. P. & Klein, D. A. (2002). *Microbiology 5th Edition*. Mc Graw Hill. Boston.
- Putri, D. M., Budiharjo, A. & Kusdiyantini, E. (2014). Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Biologi* 3(2): 11-19.
- Rosida., Sarofa, U. dan Widiyanto, S. (2013). Kualitas fisik santan bubuk dengan penambahan emulsifier lesitin dan pengisi dekstrin. *Jurnal Teknologi Pangan* 7(2): 230-241.
- Salasia S, Khusnan, Sugiyono. (2009). Distribusi gen enterotoksin *Staphylococcus aureus* dari susu segar dan pangan asal hewan. *J. Vet.* 10:111-117.
- Sifour, M., Tayeb, I., Haddar, H. O., Namous, H. & Aissaoui, S. (2012). Production and Characterization of Bacteriosin of *Lactobacillus plantarum* F12 with Inhibitory Activity Against *Listeria monocytogenes*. *TOJSAT* 2(1): 55-61.
- Srihari, E., Farid, S. L., Rossa, H. & Helen, W. S. (2010). *Pengaruh penambahan maltodekstrin pada pembuatan santan kelapa bubuk*. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. Universitas Surabaya. Surabaya.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. & Suhardi. (1997). *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Sukasih, E., Sulusi, P. & Tatang, H. (2009). Optimasi kecukupan panas pada pasteurisasi santan dan pengaruhnya terhadap mutu santan yang dihasilkan. *Jurnal Pascapanen* 6(1): 34-42.
- Suwayvia, N. (2017). *Produksi bakteriosin asal Lactobacillus plantarum FNCC 0020 sebagai antimikrobia dan stabilitasnya pada variasi suhu pemanasan, suhu penyimpanan dan pH [Skripsi]*. Universitas Islam Negeri Malang.
- Todorov, S. D. & Dicks, L. M. T. (2005). Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a strain isolated from boza. *Food Technol Biotechnol* 43(2): 165-173
- Usmiati, S. & Rahayu, W. P. (2011). *Aktivitas Hambat Bubuk Ekstrak Bakteriosin dari Lactobacillus sp. Galur SCG 1223*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Usmiati, S. & Tri, M. (2007). Seleksi dan optimasi proses produksi bakteriosin dari *Lactobacillus* sp.. *J. Pascapanen* 4(1): 27-37.
- Waisundara, V. Y., Perera, C. O. & Barlow, P. J. (2007). Effect of different pre-treatments of fresh coconut kernels on some of the quality attributes of the coconut milk extracted. *J. Food Chemistry* 101: 771-777.
- Wulandari, R. (2017). *Kualitas es krim yoghurt sinbiotik dengan kombinasi umbi gembili (Dioscorea esculenta) dan ubi jalar ungu (Ipomoea batatas var. ayamurasaki) [Skripsi]*. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Yusmarini, Y., Pato, U., Johan, V. S., Ali, A., & Kusumaningrum, K. (2017). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu. *AGRITECH* 37(1): 95-100.
- Zohri, M., Mohammad, S. A., Seyed, S. M., Homa, B., Seyed, M. H. N., Sima, E. G., Mehdi, S. A. dan Ali, J. A. (2013). Nisin-loaded chitosan/alginate nanoparticles: a hopeful hybrid biopreservative. *Journal of Food Safety* 33:40-49