

INAKTIVASI MIKROBA *Staphylococcus aureus* DALAM SUSU MENGUNAKAN MEDAN LISTRIK BERDENYUT TEGANGAN TINGGI

*(Inactivation of Staphylococcus Aureus Microbial In Milk
Using High Voltage Pulsed Electric Field*

Rudi Nurismanto ^{*)}, Sudaryati ^{*)}, Ruhi Dian Rahmita ^{**)}

^{*)}Staf pengajar Progdi Teknologi Pangan UPN “Veteran” Jawa Timur

^{**)}Alumni Progdi Teknologi Pangan UPN “Veteran” Jatim

Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar Surabaya 60294

ABSTRACT

*Pulsed electric field processing represents a promising non-thermal technology which involves the application of pulses of high voltage (20-80 kV/cm) for less than one second to fluid foods placed between two electrodes. During the application of certain PEF conditions microbial inactivation occurs by causing a pore formation and destruction of the cell membranes. The purposes of the present study were (i) to inactivated of *Staphylococcus aureus* using pulsed electric field and (ii) physicochemical properties of raw milk. Intensity field strength that used are 30 and 60 kV/cm, with pulses number 10, 20, and 30. The results showed that higher decrease of population of *Staphylococcus aureus* with intensity 60 kV/cm and pulses number 30 (0,6 log cycle) and PEF methods give insignificant effect on pH and total acid.*

Key words : pulsed electric field, population, Staphylococcus aureus

ABSTRAK

Medan listrik berdenyut (MLB) merupakan teknologi non-termal yang melibatkan penerapan medan listrik tegangan tinggi (20-80 kV / cm) selama kurang dari satu detik untuk pangan cair yang ditempatkan di antara dua elektroda. Pada metode ini inaktivasi mikroba terjadi karena pembentukan pori dan perusakan membran sel. Tujuan dari penelitian ini adalah (i) inaktivasi *Staphylococcus Aureus* menggunakan medan listrik berdenyut dan (ii) mempelajari sifat fisikokimia dari susu mentah. Intensitas medan yang digunakan adalah 30 dan 60 kV / cm, dengan jumlah denyut 10, 20, dan 30. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan yang lebih tinggi dari populasi *Staphylococcus aureus* dengan intensitas 60 kV / cm dan jumlah denyut 30 (log 0,6). Metode MLB memberikan efek tidak signifikan pada perubahan pH dan total asam.

Kata Kunci : Medan listrik berdenyut, populasi , *Staphylococcus Aureus*

PENDAHULUAN

Tuntutan masyarakat akan produk pangan yang aman dan tetap memiliki kesegaran semakin meningkat. Susu memiliki kandungan nutrisi yang lengkap. Sehingga merupakan media yang ideal bagi pertumbuhan mikroba dan menjadi mudah sekali mengalami kerusakan mikrobiologis.

Kondisi cemaran mikroba pada susu segar di wilayah Jatim berkisar antara 3 – 4 juta per ml (Kompas, 2002). Sedangkan berdasarkan SNI jumlah mikroba tidak boleh lebih dari 1 juta mikroba per ml. Untuk menurunkan populasi mikroba pada umumnya dilakukan pasteurisasi thermal.

Meskipun dapat memberikan keamanan susu, namun memiliki beberapa kelemahan, seperti mengurangi kecenderungan susu membentuk lapisan krim (Muchtadi dan Sugiyono, 1992), kerusakan komponen *flavor*, tekstur dan nutrisi (Martín, Barbosa-Cánovas dan Swanson, 2003), serta kehilangan kesegaran.

Salah satu teknologi alternatif yang mulai banyak dikembangkan adalah *Pulsed Electric Field* (PEF) atau Medan Listrik Berdenyut (MLB) yang dapat menggantikan sebagian atau seluruhnya dari proses *thermal* (Wouters, Dutreux, Smelt, dan Lelieveld, 1999) dan mampu menginaktivasi mikroba serta meminimalisasi kehilangan *flavor*, warna dan mutu pangan (Yang, Li, dan Zhang, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan teknologi Medan Listrik Berdenyut (MLB) Tegangan Tinggi sebagai pasteurisasi *non-thermal* untuk membunuh atau menginaktivasi mikroba patogen pada susu, khususnya *Staphylococcus aureus* yang terdapat dalam susu. Sehingga akan diperoleh produk susu yang aman dan tetap memiliki kesegaran dengan karakteristik mutu yang tinggi (sifat fisiko-kimia dan mikrobiologis) Disamping itu juga akan dapat dihasilkan alat MLB untuk pasteurisasi susu yang efektif.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan metode percobaan laboratorium. Lokasi penelitian adalah Lab. Mikrobiologi Jurusan Teknologi Pangan FTI UPN “Veteran” Jatim

Alat yang digunakan adalah seperangkat generator tegangan tinggi, ruang perlakuan dan sepasang elektroda. Bahan Baku yang digunakan adalah susu steril (UHT) dan kultur *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari TDC (*Tropical Deasese Center*) Universitas Airlangga. Bahan Analisa yang digunakan NA, Pepton, media MSA (*Mannitol Salt Agar*), etanol 70%, *methylene blue*, NaOH 0,1N dan aquadest, dll.

Prosedur pelaksanaan :

- Persiapan alat MLB.
Sebelum digunakan dilakukan sterilisasi alat menggunakan air dingin yang dilanjutkan dengan air dingin yang dicampur deterjen kemudian dibilas dengan air panas
- Preparasi sampel
Kultur *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada media tumbuh kemudian diinkubasikan selama 18 jam pada 37°C. Setelah tumbuh, diambil sebanyak 2 ose dan diinokulasikan pada susu steril dan diinkubasi selama 18 jam pada 37°C (sampel)
- Prosedur Pelaksanaan
Perlakuan MLB yang diaplikasikan adalah : Intensitas medan listrik (30 dan 60 kV/cm) dan jumlah denyut (10, 20 dan 30 denyut). Setelah perlakuan disimpan dalam suhu 4°C selama beberapa jam sebelum dianalisis. Sebelum dan sesudah perlakuan, *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media NA dan MSA serta diinkubasikan selama 24 jam kemudian dianalisis jumlah mikroba menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Bahan Susu

Bahan baku susu yang digunakan adalah susu steril (UHT) dengan beberapa sifat fisiko-kimia seperti terlihat pada Tabel 1. Bakteri

Staphylococcus aureus yang diinokulasikan pada susu steril (60 ml) dengan waktu inkubasi 18 jam pada suhu 37°C menyebabkan perubahan terhadap sifat susu steril (Tabel. 1).

Parameter	Susu Steril	Susu + <i>S aureus</i>
Total <i>S aureus</i>	0	2,46 x 10 ⁸ cfu/ml
Total asam*	0,190	0,216
pH	6,2	5,8
Stabilitas emulsi (% minyak terpisah)	2%	3,1%
Uji Alkohol	negative	Positif
Uji Reduktase	> 12 jam	0,5 jam

Tabel 1. Perbandingan Sifat Fisikokimia Susu Steril sebelum dan setelah inkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C dengan *S aureus*

Keterangan : * = gram asam laktat/ 100 ml susu

B. Pengaruh Intensitas dan Jumlah Denyut terhadap populasi *Staphylococcus aureus* dan sifat fisikokimia dalam susu.

1. Total *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan pada analisis yang dilakukan pada susu yang telah diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* pada suhu 37°C selama 18 jam, diperoleh total *Staphylococcus aureus* yaitu 2,46 x 10⁸ cfu/ml dan kemudian diberi perlakuan pasteurisasi Medan Listrik Berdenyut dengan intensitas 30 kV/cm dan 60 kV/cm dengan jumlah denyut 10, 20, dan 30, maka terjadi penurunan pada jumlah koloni populasi *Staphylococcus aureus* dalam susu, yang dapat dilihat pada Gambar1.

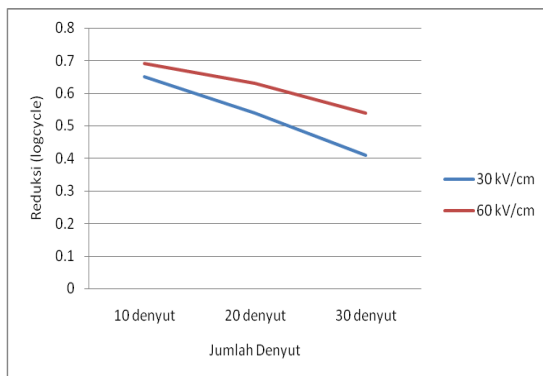
Pada Gambar. 2 nampak bahwa semakin tinggi intensitas yang digunakan semakin banyak *Staphylococcus aureus* yang mati, dikarenakan tegangan yang tinggi akan merusak lapisan membran lebih signifikan dibanding dengan intensitas yang lebih rendah. Demikian juga dengan perlakuan jumlah denyut semakin banyak jumlah denyut yang digunakan semakin banyak

Staphylococcus aureus yang mati, ini dikarenakan waktu untuk memperbaiki lapisan membran dari mikroba semakin pendek.

Penurunan jumlah populasi hasil perlakuan intensitas dan waktu perlakuan menunjukkan bahwa pada perlakuan intensitas 30 kV/cm dengan jumlah denyut 30 menghasilkan populasi mikroba *Staphylococcus aureus* yang tertinggi (7,99 log cfu) yaitu mencapai penurunan 0,62 logcycle, sedangkan perlakuan dengan intensitas 60 kV/cm dengan jumlah denyut 10 menghasilkan populasi yang terendah (7,71 logcfu) terjadi penurunan sampai 0,53 logcycle. Menunjukkan bahwa intensitas medan listrik yang tinggi akan menghasilkan tingkat kematian *Staphylococcus aureus* yang lebih banyak, demikian sebaliknya.

Dengan jumlah intensitas dan jumlah denyut tersebut tidak semua populasi *Staphylococcus aureus* mati, tetapi hanya menurunkan jumlah populasi bakteri tersebut. Menurut Pothakamury dkk (1995), *Staphylococcus aureus* yang sudah diuji cobakan pada SMUF (*Simulated Milk Ultra Filtrad*) akan terjadi penurunan

jumlah populasi pada suhu kurang dari 30°C, dengan intensitas 1,6 V/μm, waktu 200 – 300 μs, dan jumlah denyut 60, terjadi penurunan maksimal sampai dengan 3,0 – 4,0 logcycle.



Pengaruh MLB terhadap mikroba dapat bersifat reversible atau irreversible, tergantung dari beberapa faktor yang diantaranya adalah intensitas medan listrik, panjang getaran, waktu perlakuan, suhu, jenis dan jumlah serta tahap pertumbuhan mikroorganisme, pH media, konduktivitas, dan komposisi media (FDA, 2000). Dengan demikian masih diperlukan kajian mengenai pengaruh MLB terhadap mikroorganisme yang secara alami terdapat dalam susu segar dengan fase pertumbuhan stasioner, karena efektifitas MLB juga dipengaruhi oleh jenis, jumlah fase pertumbuhan mikroorganisme dan komposisi media

(Martin, Barbosa-Canovas and Swanson, 2003).

2. Sifat Fisikokimia Susu

Berdasarkan hasil analisis pada susu yang telah diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* pada suhu 37°C selama 18 jam dan setelah diberi perlakuan pasteurisasi MLB dengan intensitas 30 kV/cm dan 60 kV/cm dengan jumlah denyut 10, 20, dan 30, tidak terjadi penurunan yang signifikan pada nilai total asam, pH dan stabilitas emulsi serta uji alkohol dalam susu, yang dapat dilihat pada Tabel. 3. Hasil penelitian Michalec (2003) dalam Serrano dkk (2006), menunjukkan bahwa

warna, pH, protein, kelembaban dan ukuran partikel dari skim milk yang (UHT), yang diberi perlakuan MLB pada 35kV/cm selama 188μs, tidak mengalami perubahan pada parameter-parameter tersebut sebelum dan sesudah perlakuan. Menurut Qin (1995) dalam Serano (2006), bahwa tidak ada perubahan fisiko kimia dan rasa dengan adanya perlakuan MLB.

Menurut Fardiaz (1989), jika protein susu telah mengalami kerusakan, penggumpalan terjadi pada konsentrasi alkohol yang lebih rendah. Konsentrasi alkohol tertinggi yang belum menyebabkan penggumpalan protein dari suatu contoh susu disebut bilangan alkohol.

Tabel . 3. Pengaruh perlakuan intensitas dan jumlah denyut terhadap nilai total asam susu

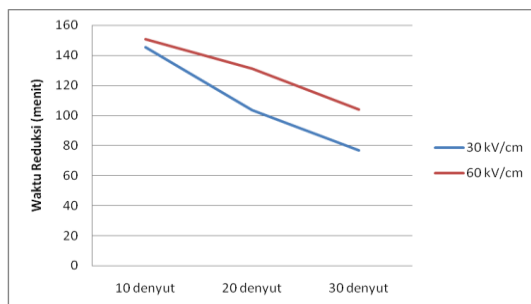
Intensitas	Jumlah Denyut	Total asam*	pH	Stabilitas emulsi**	Alkohol
30 kV/cm	10	0,219	5,77	2,93	Positif
	20	0,219	5,80	2,90	Positif
	30	0,222	5,77	3,13	Positif
60 kV/cm	10	0,216	5,83	3,07	Positif
	20	0,219	5,80	3,10	Positif
	30	0,222	5,83	2,83	Positif

Keterangan : berdasarkan gr as laktat/100 ml susu dan ** %Minyak yang terpisah

6. Uji Reduktase

Berdasarkan pada analisis yang telah dilakukan pada susu yang telah diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam diperoleh waktu reduksi 0,5 jam (30 menit). Setelah diberi perlakuan pasteurisasi Medan Listrik Berdenyut dengan intensitas 30 kV/cm dan 60 kV/cm dengan jumlah denyut 10, 20, dan 30, terjadi perubahan waktu sesuai jumlah mikroba yang terdapat didalam susu, dapat dilihat pada Gambar 3.

Waktu paling lama yang diperlukan yaitu pada perlakuan intensitas 60 kV/cm dengan jumlah denyut 10 dan waktu tercepat diperoleh pada perlakuan intensitas 30 kV/cm dengan jumlah denyut 30. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi total mikroba semakin cepat perubahan warna, dimana jumlah mikroba lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah mikroba dengan perlakuan yang lain. Perubahan *methylen blue* dapat dilihat pada lampiran.Gambar. 3.



MLB,

Menurut Atherton, and Newlander (1977), secara umum diasumsikan bahwa semakin banyak jumlah bakteri dalam susu akan semakin cepat oksigen yang dikonsumsi dan menyebabkan hilangnya warna lebih cepat. Dengan demikian waktu reduksi digunakan sebagai ukuran jumlah organisme dalam susu. Demikian sebaliknya, bahwa makin lama hilangnya warna biru, menunjukkan jumlah bakteri yang semakin sedikit. Hal

ini menunjukkan bahwa kualitas susunya semakin baik (Hadiwiyoto, 1994).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penurunan terbanyak pada perlakuan intensitas 60 kV/cm² dan jumlah pulsa 30, yaitu sebesar 0,6 logcycle. Metode Medan Listrik Berdenyut tidak berpengaruh terhadap pH dan total asam, karena nilai dari pH dan total asam baik sebelum maupun sesudah perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan dana Hibah Bersaing dari Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian No : 207/SP2H/PP/DP2M/III/2009

DAFTAR PUSTAKA

Amiali, M., M.O. Ngadi, J.P. Smith, V.G.S. Raghavan, 2005, Inactivation of *Salmonella enteritidis* in liquid egg products using pulsed electric field (PEF) Written for presentation at the CSAE/SCGR 2005 Meeting Winnipeg, Manitoba June 26 - 29, 2005.

Deptan [Departemen Pertanian], tanpa tahun, Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Bahan Makanan Asal Hewan (SNI No. : 01-6366-2000).

http://www.deptan.go.id/produksi/ditkesmavet/veteriner_residu.htm. Diakses tanggal 10 Desember 2004.

FDA [Center For Food Safety dan Applied Nutrition], 2000. Kinetics of Microbial Inactivation for

- Alternative Food Processing Technologies Executive Summary
<http://www.cfsan.fda.gov/list.html>
. Diakses tanggal 2 Desember 2004.
- Goff, D. 1999. Dairy Science and Technology. Education Series. University Of Guelph. Canada.
<http://foodsci.aps.uoguelph.ca/dairyedu/home.htm>.
- Lado, B. H. and A.E. Yousef, 2003, Selection and Identification of a *Listeria monocytogenes* Target Strain for Pulsed Electric Field Process Optimization. J. Applied and Environmental Microbiology, April 2003, p. 2223-2229, Vol. 69, No. 4.
- Malicki, A., M Oziembłowski, J Molenda, T Trziszka and S Brużewicz, 2004, Effect of Pulsed Electric Field (PEF) on Escherichia coli within The Liquid Whole Egg. *Bull Vet Inst Pulawy* 48, 371-373, 2004
- Martin, M.F.S., G.V. Barbosa-Cánovas and B.G. Swanson. 2003. Innovation in Food Processing. Food Technology. www.cepmagazine.org. March 2003. Diakses tanggal 3 Januari 2005
- Singh, R.P. 2001. Technical Elements of New and Emerging Non-Thermal Food Technologies Part I: Technical Elements. (c)FAO. 2001. <http://www.fao.org/ag/ags/agsi/Nonthermal/COPYRIGHT.HTM>. Diakses tanggal 21 Februari 2005.
- Wouters, P.C., N. Dutreux, J.P.P. M. Smelt, and H.L.M. Lelieveld, 1999, Effects of Pulsed Electric Fields on Inactivation Kinetics of *Listeria innocua* J. Applied and Environ. Microb. Vol. 65 (12): 5364-5371.
- Yang, R.J., S.-Q. LI, and Q.H. Zhang, 2004, Effects of Pulsed Electric Fields on the Activity of Enzymes in Aqueous Solution. J. Food Sci. Vol. 69 (4) :241-248