

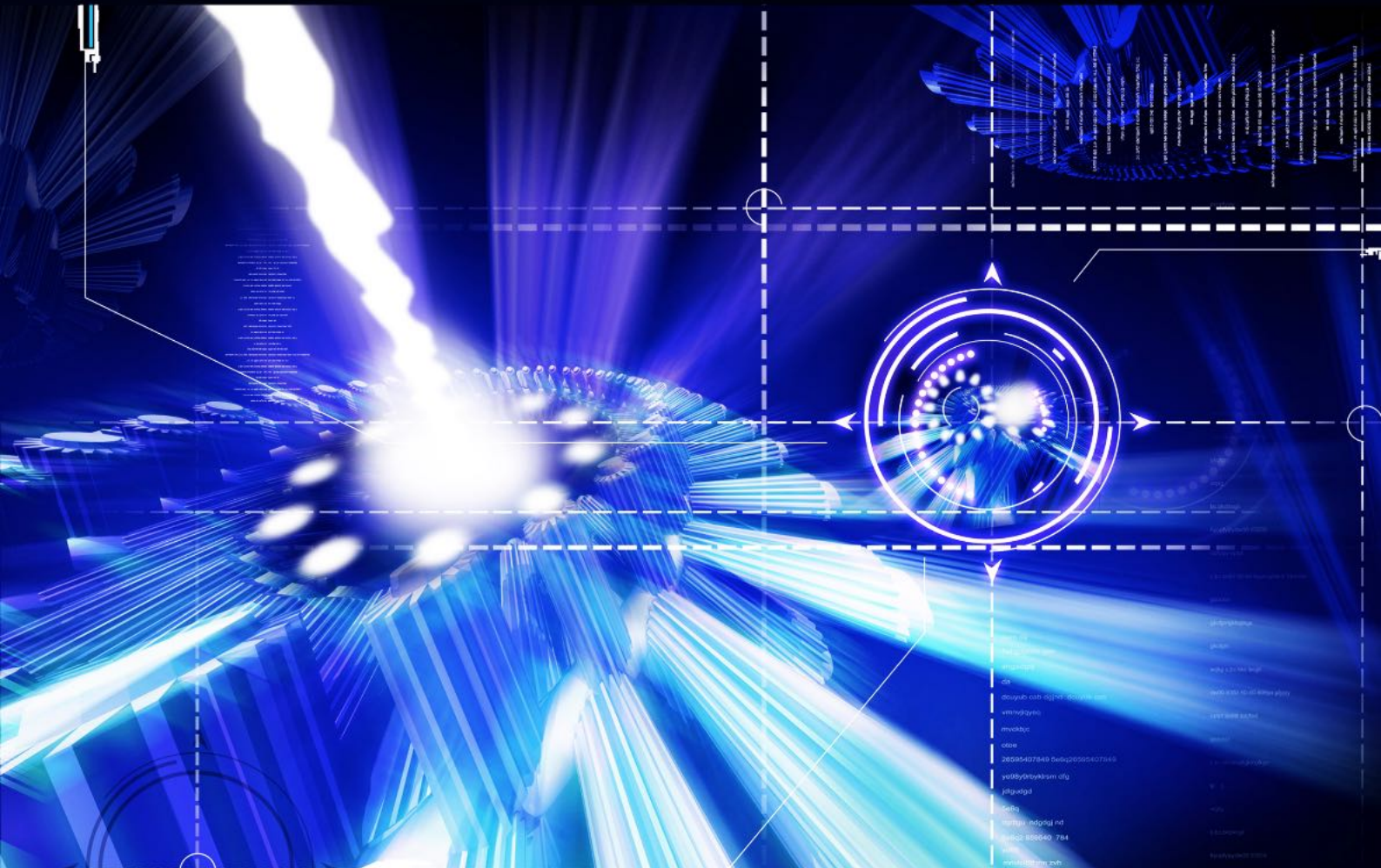


RISTEK

INSINAS 2012

SEMINAR NASIONAL INSENTIF RISET SINAS

MEMBANGUN SINERGI RISET NASIONAL UNTUK KEMANDIRIAN TEKNOLOGI



ASISTEN DEPUTI RELEVANSI PROGRAM RISET IPTEK
DEPUTI BIDANG RELEVANSI DAN PRODUKTIVITAS IPTEK
KEMENTERIAN RISET DAN TEKNOLOGI
BANDUNG, 29-30 NOVEMBER 2012

ISBN 978-602-18926-2-6



PROSIDING

Seminar Insentif Riset SINas (INSINas 2012)

Bandung, 29~30 November 2012

*“MEMBANGUN SINERGI RISET NASIONAL
UNTUK KEMANDIRIAN TEKNOLOGI”*

Penyusun

Ir. Achmad Dading Gunadi, M.A.

Ir. Hary Soebagyo, M.T.

Ir. Bambang Priwanto

Drs. Dadi Alamsyah, M.Si.

Drs. Hari Jusron M.Si.

Ir. Marhaindro Waluyo, M.T.

Dra. Enny Lestariningsih, M.M.

Dra. Ermalina, M.Sc.

Drs. Sjaeful Irwan, M.M.

Drs. Abdul Waid

Drs. Sigit A. Santa

Ir. Aris Irawan

Penyunting

Prof. Dr. Djoko Wahyu Karmiadji

Dr. Syafarudin

Prof. Dr. Didik Notosudjono

Dr. Ira Djarot

Dr. Erry Ricardo Nurzal

Dr. Hendro Wicaksono

Dr. Ahmad Saufi

Penerbit

Asdep Relevansi Program Riptek,
Deputi Bidang Relevansi dan Produktivitas Iptek,
KEMENTERIAN RISET DAN TEKNOLOGI

Gedung II-BPPT Lt.21, Jl. MH. Thamrin 8, Jakarta,

Telp. (021)3169840, Fax. (021)3101728

e-Mail: insinas@ristek.go.id, <http://www.ristek.go.id>

17. KELANGSUNGAN HIDUP, KERJA OSMOTIK DAN KONSUMSI OKSIGENPASCALARVA UDANG GALAH SELAMA PENURUNAN SALINITAS DENGAN AIR RAWAPENGECER YANG DITAMBAHKAN KALIUM
Ferdinand H.Taqwa dkk. PG-98
18. APLIKASI TEKNOLOGI LACTOPEROXIDASE-SEPHAROSE-MEMBRANE SEBAGAI METODE PENGAWETAN SUSU SEGAR YANG MURAH DAN AMAN
A.N. Al-Baarri & A.M. Legowo PG-103
19. KAJIAN PERCEPATAN ADOPTSI INOVASI TEKNOLOGI BUDIDAYA DAN PASCA PANEN KAKAO MELALUI DISEMINASI MULTI CHANNEL Mendukung GERNAS KAKAO DI SUMATERA BARAT
Nusyirwan Hasan dkk. PG-110
20. IDENTIFIKASI FISIK, KIMIA DAN MIKROBIOLOGI BIJI KOPI LUWAK SEBAGAI DASAR ACUAN TEKNOLOGI PROSES KOPI LUWAK ARTIFICIAL
Mulyana Hadipernata & Sigit Nugraha PG-117
21. IDENTIFIKASI SISTEM PERIKANAN TERI (*STOLEPHORUS SPP*) DI DESA SUNGSANG BANYUASIN SUMATERA SELATAN
Fauziyah dkk. PG-122
22. APLIKASI HASIL PENELITIAN PADA NUTRISI TUMBUHAN, BIOLOGI TANAH, DAN PENYERBUKAN DALAM PENGEMBANGAN *GOOD FARMING PRACTICE* UNTUK TANAMAN HORTIKULTURA
Ramadhani Eka Putra dkk. PG-127
23. PENINGKATAN MUTU DAN NILAI TAMBAH KOPI MELALUI PENGEMBANGAN PROSES FERMENTASI DAN DEKAFEINASI
S. Widyotomo dkk. PG-135
24. PENGKAYAAN MATERI GENETIK "A" JAVA LIGHT BREAKING COCOA MELALUI KEGIATAN SELEKSI DAN EKSPLORASI PADA POPULASI KAKAO EDEL DI WILAYAH JAWA TIMUR
Indah Anita Sari dkk. PG-140
25. APLIKASI JAMUR *PAECILOMYCES LILLACINUS* UNTUK MENGINDUKSI KETAHANAN TANAMAN KOPI TERHADAP NEMATODA PARASIT, *PRATYLENCHUS COFFEA*: EFEKTIVITAS JAMUR *PAECILOMYCES LILLACINUS* STRAIN 251 TERHADAP NEMATODA PARASIT, *PRATYLENCHUS COFFEA*
E. Sulistyowati dkk. PG-145
26. SEBARAN SPASIAL KELIMPAHAN IKAN CAKALANG (*KATSUWONUS PELAMIS*) BERDASARKAN ANALISIS DATA SATELIT OSEANOGRAFI
T.A. Wibawa PG-149
27. PENGEMBANGAN "BERAS CERDAS" SEBAGAI PANGAN POKOK ALTERNATIF BERBAHAN BAKU MOCAF
Achmad Subagio dkk. PG-157
28. PENGUJIAN TOLERANSI TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN GALUR-GALUR *ORYZA SATIVA* / *O.GLABERRIMA* PADA KONDISI LAHAN TADAH HUJAN
Untung Susanto dkk. PG-161
29. SINERGISITAS DAN STABILITAS EKSPRESI GEN *OsERF1* dan *OsDREB1A* PADA PROGENI SILANGAN CIHERANG X NIPPONBARE TRANSGENIK UNTUK TOLERANSI TERHADAP SALINITAS TINGGI
Tri Joko Santoso dkk. PG-169
30. KOMPILASI SISTEM WARIGE DENGAN INDEKS OSILASI SELATAN DAN SUHU PERMUKAAN LAUT SEBAGAI MODEL PRAKIRAAN VARIASI IKLIM DI NUSA TENGGARA BARAT
Ismail Yasin dkk. PG-175
31. RECOVERY OF PALM KERNEL OIL FROM PALM KERNEL CAKE USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE AND THE SOLUBILITY EXAMINATION
Wahyu Bahari Setianto dkk. PG-182
32. PENGARUH PENGGUNAAN KOMBINASI PROBIOTIK DAN PREBIOTIK (SIMBIOTIK) BUNGKIL INTI SAWIT (BIS) FERMENTASI TERHADAP PENURUNAN EMISI AMONIA FESES, STATUS KESEHATAN DAN PERFORMANS AYAM PETELUR
Yusrizal dkk. PG-186

APLIKASI TEKNOLOGI LACTOPEROXIDASE-SEPHAROSE-MEMBRANE SEBAGAI METODE PENGAWETAN SUSU SEGAR YANG MURAH DAN AMAN

Ahmad Ni'matullah Al-Baarri dan Anang M. Legowo

Disajikan 29-30 Nop 2012

ABSTRAK

Produksi susu di Jawa Tengah tercatat terbesar ketiga, yaitu sebesar 14% atau sekitar 84.000 ton per tahun namun hanya mengalami peningkatan produksi susu per tahun sebesar 2.800 ton per tahun (atau sebesar 3,3%). Peningkatan per tahun ini dapat dikatakan mengalami tahap stagnasi dan masalah lain yang dihadapi oleh Jawa Tengah adalah keracunan akibat mengkonsumsi susu yang disebabkan karena angka kuman yang melampaui ambang batas standar susu sehat (yaitu 106 CFU/ml). Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan pengawet susu alami dari Laktoperoksidase atau lactoperoxidase (LPO) guna menekan kandungan total bakteri pada susu sehingga dapat disimpan lebih lama pada suhu kamar. Penelitian ini didahului dengan melakukan purifikasi LPO dari susu sapi dengan cara mengambil LPO dari whey susu sapi yang kemudian dipisahkan melalui proses separasi membran resin Sepharose. Enzim yang didapat kemudian diolah untuk menghasilkan hyphothiocyanite dengan cara melakukan imobilisasi enzim dengan menggunakan resin dan menempatkannya didalam filter/membran. Filter ini digunakan untuk menyaring susu segar. Berbagai macam perlakuan penyimpanan membran juga telah dilakukan dalam penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan fenomena bahwa perendaman membran dalam phosphate buffer atau whey, dapat lebih menekan nilai penurunan aktivitas enzim dibandingkan dengan perendaman dalam aquades. Membran sepharose terbukti dapat menekan pertumbuhan bakteri yang pada susu segar yang diinkubasi pada jam keenam.

Kata Kunci: *Lactoperoxidase, total bakteri, susu segar, imobilisasi, resin*

I. PENDAHULUAN

Produksi susu nasional dari peternakan sapi perah rakyat tahun 2010 tercatat sebesar 584.000 ton per tahun. Peternak di Jawa Barat tercatat sebagai penyumbang produksi susu yang terbesar, yaitu sebanyak 40% dari produksi susu nasional dan diikuti dengan Jawa Timur yang menyumbang produksi susu sebesar 35%. Produksi susu di Jawa Tengah tercatat terbesar ketiga,

yaitu sebesar 14% atau sekitar 84.000 ton per tahun (Dirjen-Peternakan, 2011). Jawa Tengah hanya mengalami peningkatan produksi susu sebesar 14.000 ton dalam kurun waktu lima tahun terakhir. Artinya, per tahunnya hanya ada peningkatan sebesar 2.800 ton per tahun (atau sebesar 3,3%). Peningkatan per tahun ini dapat dikatakan mengalami tahap stagnasi dan masih sangat jauh jika dibandingkan dengan peningkatan pro-

duksi susu pertahun di Jawa Timur (6,3%) dan Jawa Barat (6%).

Masalah lain yang dihadapi oleh Jawa Tengah adalah keracunan akibat mengkonsumsi susu. Setiap tahun peristiwa ini terjadi dan tercatat berlangsung sejak lama. Dalam skala nasional, kasus keracunan susu di Jawa Tengah tercatat paling banyak terjadi (Suara-Merdeka, 2009; Tempo, 2010). Keracunan susu berulang kali terjadi setiap tahun. Kejadian keracunan ini terakhir tercatat pada tahun 2010 (Tempo, 2010). Kejadian keracunan ini selalu terjadi setiap tahun dalam kurun waktu lima tahun terakhir (Pikiran-Rakyat, 2006, Okezone, 2007, Suara-Merdeka, 2009, Suara-Merdeka, 2008). Jika dilakukan penelusuran, maka penyebab utama keracunan ini adalah satu: angka kuman yang melampaui ambang batas standar susu sehat (yaitu 10^6 CFU/ml) (Legowo, 2003, Legowo *et al.*, 2009).

Laktoperoksidase atau lactoperoxidase (LPO) adalah enzim alami yang tersedia dalam jumlah banyak di dalam susu (kandungannya sekitar 30 mg/l susu) (Kussendragger and Hooijdonk, 2000). Cara kerja enzim ini adalah unik, tidak sebagaimana enzim lainnya di dalam susu. LPO mengkatalisa reaksi antara hydrogen peroxide (H_2O_2) dan thiocyanate (SCN^-) yang secara natural terdapat dalam susu menjadi senyawa yang dinamakan hipothiocyanite ($OSCN^-$) (Barrett *et al.*, 1999, Kussendragger and Hooijdonk, 2000, Seifu *et al.*, 2007). Proses katalisis yang dilakukan oleh LPO dalam rangka memproduksi $OSCN^-$ dinamakan lactoperoxidase system (LPOS). Senyawa $OSCN^-$ ini adalah senyawa yang bertanggung jawab untuk membunuh bakteri, fungi, dan virus dengan merusak gugus sulfhidril (gugus S-H) dari membran sel, yang mengakibatkan pada kerusakan vital membran sel yang pada akhirnya akan membawa pada kematian sel (Al-Baarri *et al.*, 2011b, Borch *et al.*, 1989).

LPOS dapat menekan kandungan total bakteri pada susu yang disimpan pada suhu kamar selama 6 jam (hingga menjadi 10^3 CFU/ml). Total bakteri akan mencapai 10^6 CFU/ml pada 12 jam penyimpanan pada suhu kamar (Asaah, 2007, Seifu *et al.*, 2004). Oleh karena itu, FAO menyarankan penggunaan LPOS untuk menambah daya tahan susu segar di negara-negara yang mengalami kesulitan dalam hal pengangkutan dalam kontainer dingin. LPOS tergolong metode pengawetan yang aman sehingga organisasi pangan lainnya seperti FSANZ, juga mendeklarasikan bahwa LPOS adalah metode preservasi yang aman (FAO, 2005, FSANZ, 2002).

Dalam rangka menurunkan angka kuman, maka perlu dilakukan aplikasi teknologi LPOS untuk memperpanjang masa simpan susu segar. Penelitian ini akan mengaktifkan LPOS dalam susu melalui teknologi penyaringan susu segar melalui membran yang terbuat dari sepharose. Tujuan penelitian ini adalah

untuk mengetahui aplikasi teknologi lactoperoxidase-sepharose-membrane terhadap masa simpan susu segar. Manfaat dari penelitian ini adalah dapat dihambatnya perkembangan total kuman/bakteri pada susu segar.

II. METODOLOGI

A. Materi

Materi yang digunakan adalah Spectrophotometer (Schimadzu UV mini 1240, Japan), Sepharose® FF Column (GE, Japan), kolom gelas 50×3 cm, pompa vakum, susu sapi segar dari peternakan milik Fakultas Peternakan dan Pertanian Undip, kain nylon (sebagai bahan pembuat membran), waterbath, hydrogen peroxida, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (Sigma Aldrich, Singapore), ferric nitrate (Appllychem, Jakarta).

B. Metode

Metode penelitian yang akan dilakukan adalah metode penelitian laboratorium dan dapat dijelaskan secara rinci sebagai berikut:

Pengambilan susu sapi segar

Susu segar di dikumpulkan setiap kali akan melaksanakan penelitian. Oleh karena penelitian dilaksanakan pada pagi hari, maka susu segar akan didapat dari pemerahan pagi hari. Uji kualitas susu meliputi pH dan keasaman dilakukan dengan menggunakan alat pH meter dan titrasi, uji denaturasi dilakukan dengan alkohol, uji protein dan kadar lemak dilakukan masing masing dengan metode lowry dan metode gerber. Selain itu, dilakukan juga uji organoleptik berdasarkan panelist test.

Determinasi endogenous LPOS di dalam susu

Komponen yang akan dideteksi adalah aktivitas LPO, konsentrasi H_2O_2 , $OSCN^-$ dan $OSCN^-$. Aktivitas LPO akan di uji dengan menggunakan metode spektrofotometri, yang menggunakan ABTS sebagai substrat (Pruitt *et al.*, 1990). Metode ini dinilai sangat cermat dalam mendeteksi aktivitas LPO di dalam susu. Susu setelah di sentrifugasi 10.000 g, selanjutnya segera dipisahkan komponen krim untuk diambil skim nya. Skim inilah yang nantinya akan digunakan untuk melihat aktivitas LPO. Aktivitas LPO yang ada di dalam susu, akan dihitung berdasarkan standar kurva yang diperoleh dari perhitungan LPO komersial. Konsentrasi H_2O_2 akan dianalisa dengan memodifikasi metode analisa LPO dengan menggunakan horseradish peroxidase sebagai katalisator (Touch *et al.*, 2004). Konsentrasi SCN^- akan dikalkulasikan dengan menggunakan ferric sulphate. Konsentrasi SCN^- adalah seiring dengan terbentuknya warna kuning kecoklatan pada sampel setelah sampel berreaksi dengan ferric sulphate dan nitric acid (Al-Baarri *et al.*, 2011a). Konsentrasi $OSCN^-$ diukur dengan memperhitungkan oksida-

tion rate Nbs menjadi Nbs₂.

Pembuatan whey

Susu segar disentrifugasi 8000g selama 30 menit untuk mengurangi kadar lemak. Kemudian dengan penambahan rennet dan asam laktat, susu didiamkan beberapa saat (kira-kira 1 jam) pada incubator dengan suhu 30 °C. Setelah itu, akan terbentuk curd dan whey dipisahkan dari curd dengan kain saring.

Immobilisasi LPO ke dalam Sepharose

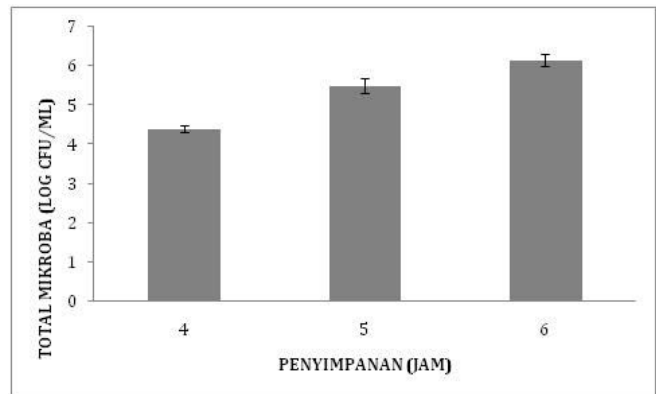
Sepharose beads sebanyak 100 g ditempatkan ke dalam kolom dengan diameter 3 cm dan panjang 50 cm. Sebelumnya, beads di cuci dengan pure water terlebih dahulu untuk menghilangkan sisa ethanol akibat penyimpanan. Beads secara berurutan dialiri pure water dan whey (sebanyak 2 liter). Kegiatan ini dilakukan pada suhu 4 °C untuk menghindari kerusakan terhadap enzim LPO. Whey setelah melewati kolom yang berisi beads, ditampung dengan menggunakan beaker glass. Metode seperti ini akan mengikat LPO ke dalam beads dan adanya LPO dapat terlihat dari perubahan warna menjadi agak hitam pada beads bagian atas. Kemudian ke dalam kolom dialiri larutan 0.001 mM NaCl untuk melarutkan komponen bukan enzim.

Determinasi aktivitas LPO di dalam beads

Sebanyak 1 g beads yang mengandung LPO diambil dari kolom gelas untuk diukur aktivitas LPOnya dan dimasukkan ke dalam kolom mini berdiameter 0,5 cm dan panjang 5 cm. Setelah itu, secara berturut-turut ke dalam kolom mini tersebut, dimasukkan 0,5 mM ABTS dan 0,5 mM H₂O₂. Setelah reaksi dibiarkan selama 1 menit, maka campuran kedua senyawa tersebut disedot keluar dengan bantuan pompa vakum. Kegiatan penyedotan ini dilakukan secara cepat dengan menyatel aliran pompa vakum secara maksimal. Setelah itu, larutan hasil sedotan ini akan berwarna kehijauan dan dianalisis dengan menggunakan spectrophotometer pada panjang gelombang 412 nm. LPO didalam beads inilah yang nantinya digunakan sebagai bahan pembuatan membrane. Pembuatan membrane akan dimulai dilakukan pada tahap kedua penelitian tahun pertama ini.

Imobilisasi Whey

Imobilisasi laktoperoksidase (LPO) dilakukan dengan menggunakan ion exchange chromatography. Whey dialirkan pada kolom yang berisi Sepharose FF. Sepharose FF kemudian dialirkan dengan 0,4 M NaCl dalam 0,1 M phospat buffer sebanyak 500 ml untuk mendapatkan LPO. Sepharose FF kemudian dialirkan kembali dengan 0,1 M NaCl untuk membersihkan sepharose. Sepharose FF kemudian direndam dalam larutan aquadest dengan 20% alkohol untuk penyimpanan.



GAMBAR 1: Total mikroba susu yang disimpan selama 6 jam setelah pemerahan

Pembuatan Membran

Ke dalam membran yang terbuat dari kain nylon berbentuk bundar dengan diameter 8,5 cm, diletakkan 1 g Sepharose. Untuk menghindari hilangnya Sepharose, maka dilakukan pelapisan dengan kain nylon yang lain sehingga terbentuk dua lapis tipis kain nylon yang didalamnya terdapat Sepharose. Pada tepi Sepharose di klem dengan poliethylene sehingga Sepharose tetap berada di dalam membran. Membran yang sudah jadi ini, kemudian digunakan untuk menyaring susu. Sebelum digunakan untuk menyaring susu, dilakukan terlebih dahulu pencelupan ke dalam whey yang telah diketahui kadar LPO nya.

Penentuan Efisiensi Imobilisasi

Laktoperoksidase murni yang telah diketahui aktivitasnya dilewatkan pada kolom yang berisi SP-Sepharose sebanyak 1 gram. Laktoperoksidase sebanyak 10, 100, 200 dan 300 ml disirkulasikan melalui kolom pada laju aliran 1,0 ml/menit menggunakan sebuah pompa peristaltik. Cairan buangan yang telah melewati kolom kemudian ditentukan aktivitas LPOnya.

Penentuan aktivitas LPO dilakukan dengan menggunakan ABTS sebagai substrat. 450 μ l 1,0 mM ABTS dalam 10 mM asetat buffer (pH 4,4) dan 450 μ l dari 0,55 mM H₂O₂ dalam air murni yang dimasukkan ke dalam cuvet, kemudian output kolom dituangkan sebanyak 50 μ l ke dalam cuvet, dikocok perlahan dengan menggunakan pipet agar homogen dan dibaca pada absorbansi 412 nm, satu unit aktivitas enzimatis LPO dinyatakan oleh jumlah enzim yang diperlukan untuk mengoksidasi 1 mol ABTS/ min. koefisien molat penghilangan ABTS pada 412 nm sebesar 32.400 m⁻¹ cm⁻¹.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Perkembangan bakteri di dalam susu segar

Susu merupakan pangan yang mudah terkontaminasi dengan mikroba. Apalagi di dalam suhu ruang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 4 jam penyimpanan total mikroba sebanyak 4,389 log CFU/ml dan selama 6 jam penyimpanan total mikroba di dalam susu sebanyak 6,15 log CFU/ml. Hal ini dapat diartikan bahwa semakin lama penyimpanan maka semakin banyak total mikroba yang terdapat di dalam susu. Adanya mikroba yang semakin banyak ini disebabkan semakin rendahnya sistem pertahanan OSCN di dalam susu. Rendahnya OSCN yang terbentuk karena enzim LPO sebagai katalisator hilang ketika pada jam ke 3 sehingga pada jam ke 4 sampai jam ke 6 total mikroba di dalam susu meningkat.

B. Pembuatan membran LPO

Membran LPO akan dibuat dengan menempatkan Sepharose Fast Flow di dalam berbagai macam jenis kain penyaring yang terbuat dari nylon dan polyester. Proses pembuatannya adalah dengan menggunting 2 helai kain tersebut menjadi berbentuk lingkaran dengan diameter 9 cm. Lingkaran dengan diameter sebesar 9 cm ini ditujukan untuk memberikan ukuran yang sesuai dengan mesin press yang lazim dijumpai di pasaran. Kemudian diantara 2 lembar kain tersebut, diletakkan sebanyak 1 g SP-FF berat basah yang kemudian diratakan hingga ke seluruh permukaan kain. Setelah itu, kedua helai kain tersebut ditempatkan kedalam mesin press hingga tepi kedua helai kain tersebut akhirnya menyatu dan membentuk suatu bentuk yang kaku dan siap digunakan untuk menyaring susu segar.

Dalam percobaan tingkat laboratorium ini, berdasarkan data yang didapat dari penelitian sebelumnya maka digunakan LPO sebesar 540 U/ml. Cara imobilisasi yang dilakukan adalah dengan menempatkan membran yang sudah terisi dengan SP-FF ke dalam larutan LPO sebanyak 100 ml. Karena setiap mililiter larutan LPO mengandung 54 U, maka sejumlah 100 ml dapat diartikan mempunyai kandungan LPO sebesar 540 U. Pencelupan ke dalam larutan LPO ini dilakukan selama 30 menit di dalam suhu 4 °C untuk menghindari penurunan aktivitas enzim.

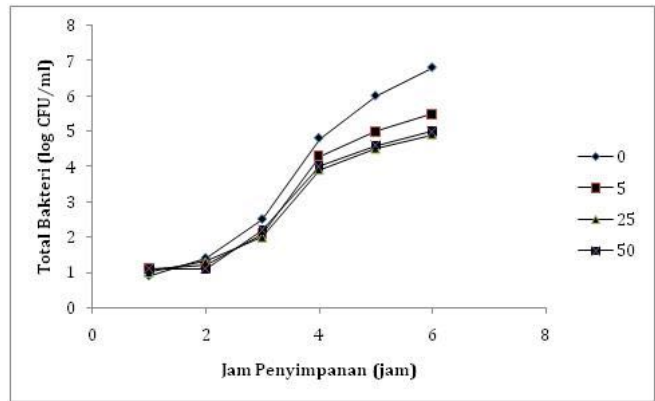
Setelah dilakukan proses pencelupan, maka LPO-Sepharose Membrane siap digunakan untuk menyaring susu segar. Tahap penelitian laboratorium digunakan susu segar dengan kapasitas 100 - 1000 mL. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada GAMBAR 1 berikut ini.

Berdasarkan GAMBAR 3 maka dapat disimpulkan bahwa lactoperoxidase-sepharose-membrane telah terbukti berhasil menekan perkembangan total bakteri pada susu segar disimpan pada suhu kamar selama 6 jam penyimpanan. Sebagaimana terlihat pada GAMBAR 3, penggunaan membran untuk menyaring susu pada jam ke tiga masa penyimpanan, dapat menurunkan total bakteri pada jam keenam penyimpanan sebanyak sekitar 1 log unit. Angka penurunan ini sangat

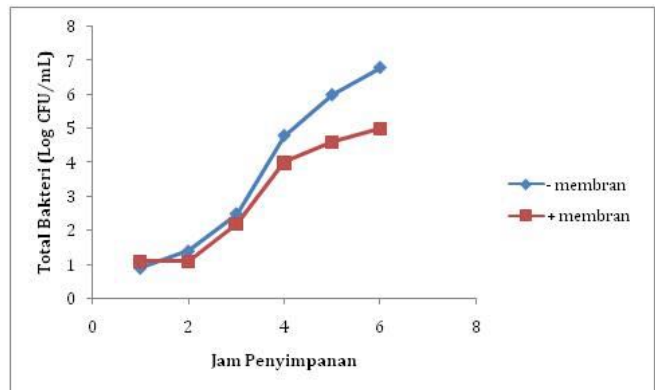
TABEL 1: Daya tahan dan laju alir dua jenis kain: kain nylon dan polyester, yang digunakan untuk bahan membuat membran

	Jenis Kain	
	Nylon	Polyester
Daya tahan	93%	75%
Laju alir per menit	5 L	4 L

Ket.: Daya tahan adalah daya untuk menahan sepharose agar tidak lolos melewati kain yang dihitung dalam persentase (persentase berat sepharose yang tertahan di kain dibagi dengan berat sepharose mula-mula)



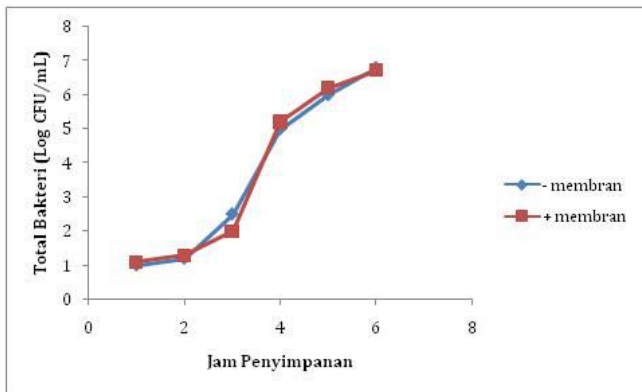
GAMBAR 2: Perkembangan total bakteri di dalam susu segar dengan penambahan LPO yang terimobilisasi didalam resin.



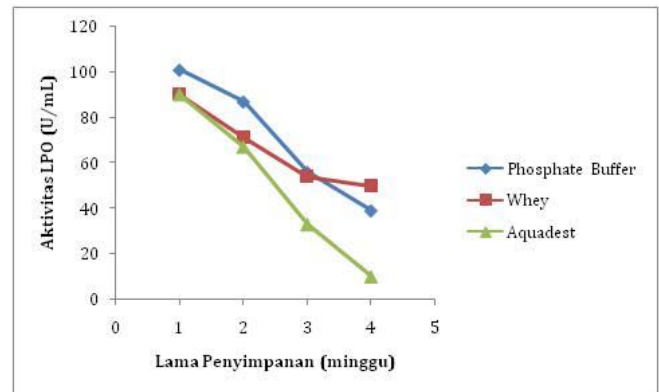
GAMBAR 3: Perbedaan total bakteri tiap jam di dalam susu segar yang disaring melewati lactoperoxidase-sepharose-membrane pada jam ketiga

berarti bagi peternak yang menyetor susu ke industri pengolahan susu yang mempunyai persyaratan angka kuman atau total bakteri sebesar 6 log unit.

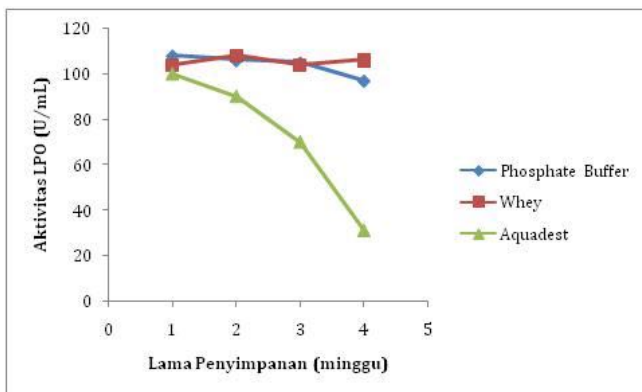
Penelitian dengan melakukan penyaringan susu segar pada jam pertama (GAMBAR 4), tidak didapat hasil yang memuaskan. Sebagaimana terlihat pada GAMBAR 4, tidak ada perbedaan total bakteri antara susu yang disaring dengan susu yang tidak disaring. Oleh



GAMBAR 4: Perbedaan total bakteri tiap jam di dalam susu segar yang disaring melewati lactoperoxidase-sepharose-membrane pada jam pertama



GAMBAR 6: Penurunan aktivitas LPO dalam membran yang direndam dengan menggunakan tiga jenis larutan perendam dalam suhu 25 °C



GAMBAR 5: Penurunan aktivitas LPO dalam membran yang direndam dengan menggunakan tiga jenis larutan perendam dalam suhu 10 °C

karena itu, rekomendasi yang dapat diberikan adalah penggunaan membran pada jam ketiga.

C. Penyimpanan membran

Sebagaimana terlihat pada **GAMBAR 5** dan **GAMBAR 6**, aktivitas LPO dalam membran menurun seiring dengan lamanya penyimpanan. Pada **GAMBAR 5**, didapat kesimpulan bahwa perendaman pada suhu 10 °C dengan menggunakan phosphate buffer atau whey, dapat menekan nilai penurunan aktivitas LPO. Penurunan yang cukup tajam terjadi pada membran yang direndam dalam aquades.

Penurunan yang tajam terjadi pada membran yang direndam dengan menggunakan ketiga jenis bahan perendam pada suhu penyimpanan 25 °C. Walaupun terjadi penurunan hingga 50% aktivitasnya, perendaman dalam phosphate buffer atau whey, dapat lebih menekan nilai penurunan dibandingkan dengan perendaman dalam aquades.

Berdasarkan tahap penelitian ini, dengan memperhatikan faktor ketersediaan bahan dan kemudahan ba-

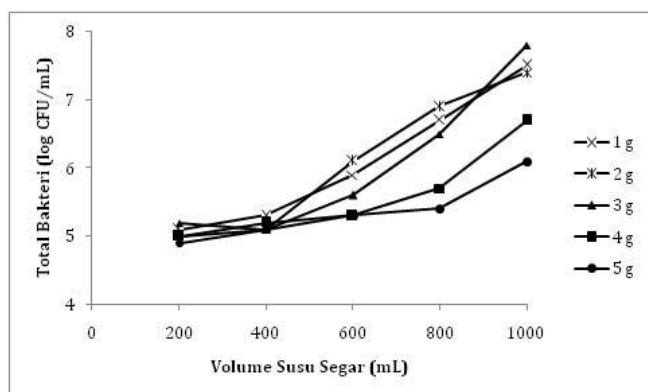
han untuk didapat, maka perendaman dengan menggunakan whey merupakan perendaman yang terbaik dibandingkan dengan phosphate buffer. Perendaman di dalam aquades tidak disarankan karena akan menurunkan aktivitas LPO secara drastis walaupun disimpan dalam suhu dingin (10 °C).

D. Perbesaran volume susu segar yang disaring

Susu segar yang digunakan dalam penelitian terdahulu adalah susu segar dengan kapasitas 100 mL dan menunjukkan penurunan total bakteri sebanyak 1 log CFU/mL. Upaya ini perlu dikembangkan untuk dapat diaplikasikan pada susu dengan volume yang lebih besar sehingga dapat digunakan di masyarakat. Untuk itulah, penelitian tahap berikutnya adalah menggunakan susu dengan kapasitas lebih besar dan dengan kapasitas Sepharose yang lebih besar lagi. Penelitian tersebut menggunakan susu segar dengan volume 1000 mL dan dengan Sepharose sebanyak 5g. Hasil dari penelitian tahap ini dapat dilihat pada **GAMBAR 7**.

GAMBAR 7 didapat dari perhitungan total bakteri pada susu segar setelah melewati Lactoperoxidase-sepharose-membran. Secara teknis, susu segar yang didapat dari pemerahan, kemudian diinkubasi pada suhu kamar didalam tempat yang steril kemudian pada jam ketiga dilewatkan melalui membran. Sepharose yang digunakan untuk pembuatan Lactoperoxidase-membran adalah berkisar dari 1~5g dan susu segar yang dilewatkan melalui membran tersebut adalah berkisar dari 200 hingga 1000 mL. Setelah melewati membran, susu segar diteruskan proses inkubasinya hingga jam keenam dan kemudian dihitung total bakterinya.

Sebagaimana tampak pada **GAMBAR 7** bahwa semakin banyak volume sepharose yang digunakan di dalam membran, maka akan semakin menekan total bakteri pada susu segar yang diinkubasi pada jam keenam. Hal ini terlihat dari penggunaan 5g sepharose ternyata dapat menekan populasi bakteri pada susu segar se-



GAMBAR 7: Total bakteri (dalam CFU/mL) pada berbagai macam volume susu segar yang dibiarkan selama 6 jam pada suhu kamar setelah mendapat perlakuan penyaringan dengan menggunakan Lactoperoxidase-sepharose-membrane pada jam ketiga penyimpanan

banyak 1000 mL pada jam keenam inkubasi.

IV. KESIMPULAN

Komponen indigenous LPOS yaitu SCN^- , H_2O_2 , dan OSCN^- telah berhasil dideteksi dengan baik dengan menggunakan metode yang digunakan. Metode ini akan dipakai seterusnya hingga kegiatan penelitian selesai. Komponen LPOS menurun sesuai dengan yang diperkirakan sebelumnya namun penurunan ini dapat dihambat ketika susu berada dalam kondisi dingin. Oleh karena itu, purifikasi yang telah dilakukan, harus berasal dari susu segar yang baru saja diperah. Setelah tahap purifikasi yang telah dilakukan, maka disimpulkan bahwa fraksi nomor 51-70 adalah fraksi yang akan digunakan untuk mendapatkan LPO murni yang nantinya akan dipakai untuk immobilisasi ke dalam Sepharose. Pada tahap ini berhasil diperoleh data mengenai bahan pembuat membran, yaitu LPO beads yang selanjutnya akan diaplikasikan untuk membuat membran. LPO beads yang disimpan dengan menggunakan whey dapat dipertahankan kualitasnya dengan baik. Membran nantinya akan dibuat sedemikian sehingga mudah penanganannya dan praktis serta akan disimpan dengan menggunakan whey. Penelitian susu segar dengan penambahan LPO terbukti menekan total bakteri dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Al-Baarri, A. N. 2011. Lactoperoxidase Activity on Bovine Whey at Critical Temperature Storage. Unpublished data.
- [2] Al-Baarri, A. N., Hayashi, M., Ogawa, M. and Hayakawa, S. 2011a. Effects of mono- and disaccharides on the antimicrobial activity of bovine lactoperoxidase system. *Journal of Food Protection*, 74, 134-139.
- [3] Al-Baarri, A. N., Legowo, A. M., Ogawa, M. and Hayakawa, S. 2011b. Application of an immobilized lactoperoxidase to continuous hypothiocyanite production. *Journal of Food Science* (submitted).
- [4] Al-Baarri, A. N., Ogawa, M. and Hayakawa, S. 2010. Scale-up studies on immobilization of lactoperoxidase using milk whey for producing antimicrobial agent. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 35, 185-191.
- [5] Al-Baarri, A. N., Ogawa, M. and Hayakawa, S. 2011c. Application of lactoperoxidase system using bovine whey and the effect of storage condition on lactoperoxidase activity. *International Journal of Dairy Science*, 6, 72-78.
- [6] Asaah, N. O., Fonteh, P. Kamga, S. Mendi, H. Imele. 2007. Activation of the lactoperoxidase system as a method of preserving raw milk in areas without cooling facilities. *African J. Food Agr. Nutr. Develop.*, 7, 1-15.
- [7] Barrett, N. E., Grandison, A. S. and Lewis, M. J. 1999. Contribution of the lactoperoxidase system to keeping quality of pasteurized milk. *Journal of Dairy Research*, 66, 73-80.
- [8] Boots, J.-W. and Floris, R. 2006. Lactoperoxidase: from catalytic mechanism to practical applications. *International Dairy Journal*, 16, 1272-1276.
- [9] Borch, E., Wallentin, C., Rosen, M. and Bjorck, L. 1989. Antibacterial effect of the lactoperoxidase/thiocyanate/hydrogen peroxide system against strains of *Campylobacter* isolated from poultry. *Journal of Food Protection*, 52, 638-641.
- [10] Buckle, K. A. 1987. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia Press, Jakarta. Clausen, M. R., Skibsted, L. H. and Stagsted, J. 2008. Inhibition of lactoperoxidase-catalyzed 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) and tyrosine oxidation by tyrosine-containing random amino acid copolymers. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 8692-8698.
- [11] Dirjen Peternakan. 2011. Data Statistik Peternakan Dirjen Peternakan Republik Indonesia. Direktorat Jenderal Peternakan Republik Indonesia.
- [12] Drgalic, I., Tratnik, L. and Bozanic, R. 2005. Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Lait*, 85, 171-179.
- [13] FAO. 2005. Benefits and potential risks of the lactoperoxidase system of raw milk preservation. Report of an FAO/WHO technical meeting. FAO/WHO, Rome, Italy. 28th November ~ 2nd December 2005.
- [14] FSANZ. 2002. Application A404 lactoperoxidase system. Food Standards Australia New Zealand Final Assesment Report. 18 December 2002.
- [15] Hayashi, M. and Al-Baarri, A. N. 2010. Fixed

- Method of lactoperoxidase purification using Sepharose Fast Flow Column resin. Unpublished data.
- [16] Jay, I. M. 2000. *Taxonomy, Role, and Significance of Microorganisms in Food*. Modern Food Microbiology. Aspen Publishers, Gaithersburg MD.
- [17] Kussendrager, K. D. and Hooijdonk, A. C. M. v. 2000. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence mechanism of action and application. *British Journal of Nutrition*, 84, S19-S25.
- [18] Legowo, A. M. 2003. Mengawetkan susu segar dengan LP-system. *Harian Kompas*. *Harian-Kompas*, Jakarta.
- [19] Legowo, A. M., Al-Baarri, A. N., Ogawa, M. and Hayakawa, S. 2011. The Performance Inhibition of Ketoheptoses and Aldoheptoses in Lactoperoxidase Activity Assay. *Proceedings of the International Conference of Indonesian Society Lactic Acid Bacteria* (In Press).
- [20] Legowo, A. M., Kusrahayu and Mulyani, S. 2009. *Ilmu dan Teknologi Susu*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- [21] Munir, A. M. 2010. Nestl Indonesia Inc., Unpublished Data.
- [22] Ostdal, H., Bjerrum, M. J., Pedersen, J. A. and Andersen, H. J. 2000. Lactoperoxidase-induced protein oxidation in milk. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 3939 - 3944.
- [23] Pruitt, K. M., Kamau, D. N., Miller, K., Mansson-Rahemtulla, B. and Rahemtulla, F. 1990. Quantitative, standardized assays for determining the concentrations of bovine lactoperoxidase, human salivary peroxidase, and human myeloperoxidase. *Analytical Biochemistry*, 191, 278-286.
- [24] Reiter, B. and Harnulv, B. G. 1984. Lactoperoxidase antibacterial system: natural occurrence, biological functions and practical applications. *Journal of Food Protection*, 47, 724-732.
- [25] Seifu, E., Buys, E. M. and Donkin, E. F. 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 137-154.
- [26] Seifu, E., Buys, E. M. and Donkin, E. F. 2007. Potential of Lactoperoxidase to diagnose subclinical mastitis in goats. *Small Ruminant Research*, 69, 154-158.
- [27] Seifu, E., Buys, E. M., Donkin, E. F. and Petzer, I.-M. 2004. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system against food-borne pathogens in Saaen and South African Indigenous goat milk. *Food Control*, 15, 447-452.
- [28] Shakeel-ur, R., Farkye, N. Y. and Hubert, R. 2002. Enzymes indigenous to milk - lactoperoxidase. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Oxford: Elsevier, 938-941.
- [29] Tempo. 2010. Puluhan Siswa SD Keracunan Susu Kadaluwarsa. *Tempo Interaktif*, Lumajang.
- [30] Touch, V., Hayakawa, S., Yamada, S. and Kaneko, S. 2004. Effect of lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide system on *Salmonella enteritidis* in animal or vegetable foods. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 175-183.
- [31] Wit, J. N. d. and Hooydonk, A. C. M. v. 1996. Structure, functions, and application of lactoperoxidase in natural antimicrobial system. *Netherland Milk and Dairy Journal*, 50.
- [32] Wolfson, L. M. and Sumner, S. S. 1993. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: A Review *Journal of Food Protection*, 56, 887-892.
- [33] Yener, F. Y. G., Korel, F. and Yemencioğlu, A. 2009. Antimicrobial activity of lactoperoxidase system incorporated into cross-linked alginate films. *Journal of Food Science*, 74, M73-M79.