

## KARAKTERISTIK DANGKE DARI SUSU DENGAN WAKTU INKUBASI BERBEDA PASCA PERENDAMAN DALAM LARUTAN LAKTOFERIN

Ferdina Marfiyanti Vera Kesuma, Suranto Moch Sayuthi, Ahmad N Al-Baarri, Anang M Legowo

**ABSTRAK:** Susu merupakan bahan makanan yang istimewa bagi manusia karena kelezatan dan komposisi zat gizinya yang ideal. Dangke merupakan suatu produk olahan hasil dari fermentasi susu yang dikerjakan melalui teknik penggumpalan dengan beberapa campuran bahan. Laktoferin (LF) merupakan salah satu protein yang secara alami ditemukan dalam susu yang mampu mengikat ion besi (FE) dari mikroba, sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji karakteristik dangke yang telah direndam dalam cairan yang mengandung enzim laktoferin. Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola *Split Plot in Time* dengan 3 ulangan. Perlakuan yang diterapkan yaitu dangke tanpa perlakuan (A1), dangke dengan perlakuan menggunakan laktoferin (A2). Variabel yang diamati adalah total bakteri, nilai pH, dan profil protein. Hasil analisis menunjukkan bahwa total mikroba dan nilai pH dengan perendaman dangke menggunakan larutan laktoferin dan fosfat buffer berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap perlakuan dan waktu, sedangkan berdasarkan uji profil protein jenis protein yang tampak nyata yaitu kasein. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa total mikroba pada dangke dengan menggunakan larutan laktoferin mampu menurunkan mikroba secara nyata karena laktoferin mampu menghambat pertumbuhan mikroba.

Kata kunci : laktoferin, dangke, total mikroba, nilai pH, profil protein.

### PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan makanan yang istimewa bagi manusia karena kelezatan dan komposisinya yaitu mengandung semua zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Susu tidak mampu bertahan lama pada suhu ruang, bila dibiarkan selama 6 jam maka akan mengalami penurunan kualitas susu. Dengan adanya pengolahan dan pengawetan makanan maka susu dapat diolah menjadi produk olahan dangke.

Dangke merupakan produk olahan susu kerbau atau susu secara tradisional yang berasal dari Sulawesi Selatan. Dangke itu sendiri merupakan suatu produk olahan yang terbuat dari fermentasi susu kerbau yang dikerjakan secara tradisional melalui teknik penggumpalan melalui beberapa campuran bahan. Dangke merupakan produk sejenis keju lunak yang dibuat dengan cara dipanaskan dengan api kecil sampai mendidih, kemudian ditambahkan koagulan berupa getah pepaya (*papain*) sehingga terjadi penggumpalan. Enzim secara alamiah akan mengubah susu sapi atau kerbau itu menjadi padat akibat terjadinya pemisahan protein dan air. Metode pengawetan yang biasa dilakukan oleh masyarakat adalah penambahan larutan garam dapur.

Laktoferin (LF) disebut sebagai protein anti mikrobia, merupakan salah satu protein yang secara alami ditemukan dalam susu. Laktoferin adalah glikoprotein berbentuk bulat dengan massa molekul sekitar 80 kDa yang banyak diwakili dalam cairan sekresi seperti susu (Al-Baarri et al., 2011).

Artikel dikirim tanggal 1/07/2013, diterima tanggal 30/08/2013. Penulis Ferdina Marfiyanti Vera Kesuma dan Suranto Moch Sayuthi adalah dari Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penulis Ahmad Ni'matullah Al-Baarri dan Anang Mohamad Legowo adalah dari Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Kontak langsung dengan penulis Ahmad Ni'matullah Al-Baarri (albari@undip.ac.id).

©2013 Indonesian Food Technologist Community  
Available online at [www.journal.ift.or.id](http://www.journal.ift.or.id)

Laktoferin mampu mengikat ion besi (FE) dari mikroba, sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikroba. Laktoferin ditemukan dalam jumlah besar dalam sekresi mamalia seperti susu, air mata, saliva. Pentingnya laktoferin dalam menghambat pertumbuhan mikrobia, maka perlu adanya suatu usaha untuk meningkatkan kadar laktoferin di dalam susu.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji karakteristik dangke yang telah direndam dalam cairan yang mengandung enzim laktoferin. Karakteristik dangke yang di uji meliputi total mikroba, nilai pH dan profil protein. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk menginformasikan kepada masyarakat bahwa dangke dapat bertahan lebih lama dengan perendaman menggunakan LF.

### MATERI DAN METODE

#### Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu segar 2 liter yang didapat dari kandang sapi perah Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, enzim LF 21ml, enzim papain 6 ml, garam 5 g, mercapto etanol, sampel buffer, larutan *Bromophenol Blue*, strain CBB, gel SDS – PAGE, *Phospat Buffer* steril 60 ml, aquadest, dan alcohol, pisau, talenan, kain mori, vortex, cetakan, *eppendorf*, *makrotube*, *mikrotube*, pengaduk, mikropipet, pH meter, petri film, gelas beker, gelas ukur, nampan, seperangkat alat SDS – PAGE, kuvet, spektrofotometer, dan inkubator.

#### Metode

##### Pembuatan Dangke

Pembuatan dangke dilakukan dengan menggunakan susu sapi yang di dapat dari kandang Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro sebanyak 2 liter.

Kemudian susu dipasteurisasi terlebih dahulu dengan suhu 60-70°C memasukkan enzim papain sebanyak 6 ml dan garam sebanyak 5 g hingga menggumpal. Gumpalan tersebut disaring menggunakan kain mori lalu dimasukkan ke dalam cetakan khusus sambil ditekan sehingga cairannya terpisah dan menjadi padat. Kemudian di potong-potong menjadi berukuran kecil dengan berat 0,5 g.

**Purifikasi Enzim Laktoferin**

Pengambilan enzim laktoferin dilakukan dengan menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk purifikasi, yang pertama menyiapkan kolom terbuka berukuran panjang 50 cm dan diameter 3 cm, kemudian menyiapkan sepharose fast flow setelah itu dimasukkan ke dalam kolom. Sepharose fast flow dicuci dengan menggunakan NaCl 1 M dalam aquades sebanyak 300 ml yang dialirkan ke dalam kolom. Setelah itu kolom kembali dicuci dengan menggunakan aquades, kemudian mengalirkan whey ke dalam kolom yang berada pada ruangan yang bersuhu 4°C. setelah mengalirkan whey larutan yang terbuang merupakan buangan whey yang tidak terdapat laktoferin karena laktoferin telah diikat oleh sepharose fast flow. Untuk memperoleh laktoferin yaitu dengan mengalirkan NaCl 1 M ke dalam kolom dan ditampung karena mengandung laktoferin dan kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube dan disimpan dalam freezer (Al-Baarri *et al.*, 2011).

**Total Mikroba**

Total bakteri dangke dihitung dengan menggunakan pertri film sebagai pembanding selanjutnya dihitung dengan mengaplikasikan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm (Aslam *et al.*, 2012). Langkah pertama adalah menyiapkan sampel dangke dengan ukuran 0,5 gram yang telah direndam dalam LF dan PB. Sampel dangke kemudian dimasukkan dalam effendof steril berisi Fosfat Buffer 0,01M sebanyak 900 µl dan divortex agar sampel dangke hancur. Kemudian pengambilan larutan dangke sebanyak 10 µl dan 990 µl aquades dan dimasukkan dalam cuvet dilakukan pengocokan dalam cuvet agar larutan homogen lalu diukur menggunakan Spektrofotometer, nilai yang muncul di layar Spektrofotometer dicatat pada detik ke 10 dan 20. Setelah itu data absorban akan diregresikan ke dalam bentuk log CFU/ml.

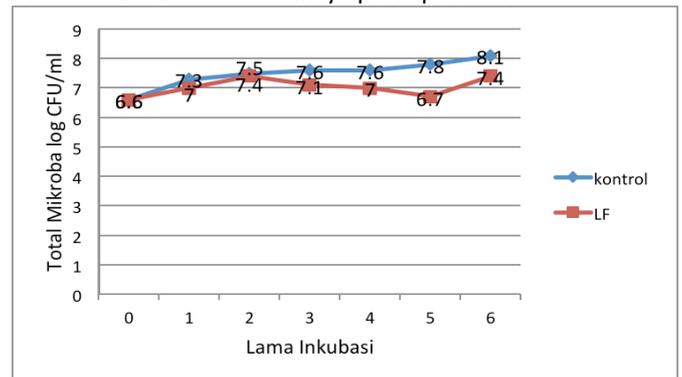
**Nilai pH**

Pengujian pH menggunakan alat pH meter. Cara pengukurannya yaitu alat di kalibrasi dengan alat buffer pada pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dengan aquadest lalu dikeringkan. Sampel yang telah diukur sebanyak 1 ml dicelupkan elektroda sambil dikocok kemudian dibaca angka yang ditunjukkan jarum atau digital (Bintoro, 2008).

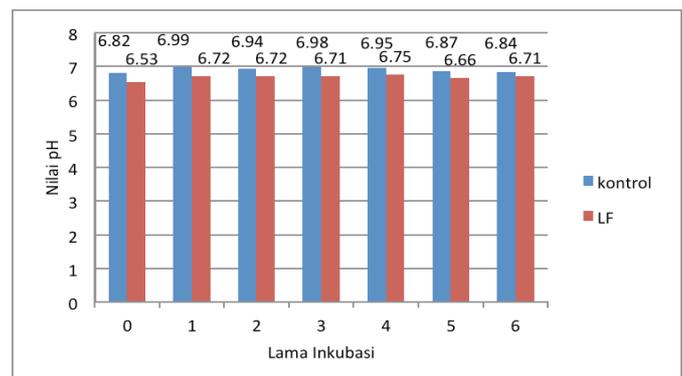
**Profil Protein**

Profil protein dianalisis dengan menggunakan metode elektroforesis satu dimensi SDS-PAGE dengan system buffer Laemmli dan konsentrasi gel poliakrilamid 10% (Hames, 2005). Sampel sebanyak 15 µl kemudian ditambahkan 15 µl gel loading buffer. Menambahkan 3 µl mercapto etanol lalu memasukkan sampel kedalam air mendidih selama 2 menit.

Mencetak gel pada cetakan yang terlebih dahulu diolesi vaseline kemudian memasukkan sisir pembatas. Filtrate sampel dan standar kemudian diinjeksikan pada kolom gel masing - masing 15 µl pada setiap band. Memasang cetakan pada alat yang sebelumnya telah diberi 50 ml larutan SDS Buffer dan dielektroforesis pada kondisi 25 - 30 V selama ±7 jam. Gel kemudian dilepaskan dari cetakan, kemudian direndam dalam larutan *Bromophenol Blue* selama 30 menit. Bilas dengan strain CBB sebanyak 2 kali dengan cara digojok pada alat selama ± 3 jam. Gel selanjutnya direndam dalam aquadest. Hasil yang diperoleh dianalisis lebih lanjut untuk menentukan ada atau tidaknya profil protein.



Ilustrasi 1. Rerata Total Mikroba pada Dangke dengan Lama Inkubasi Berbeda



Ilustrasi 2. Rerata Nilai pH Dangke dengan Perlakuan Phoshat Buffer (control dan dengan Laktoferin)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Total Mikroba**

Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan bahwa total mikroba pada dangke dengan perlakuan dalam larutan phospat buffer dan laktoferin berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap total mikroba. Total mikroba yang diperoleh dari hasil penelitian pada perlakuan A1 dan A2 adalah 7,5 log CFU/ml dan 7,0 log CFU/ml. Hasil rerata waktu inkubasi pada jam ke 0 berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap waktu inkubasi jam ke 1,2,3,4,5,6 yaitu 6,6; 7,2; 7,5; 7,3; 7,3; 7,3; 7,8 log CFU/ml. Lama penyimpanan berpengaruh pada jumlah total mikroba. Semakin lama penyimpanan maka akan meningkatkan jumlah total mikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat Suriawiria (1985) bahwa Kandungan bakteri di dalam susu akibat kontaminasi dari lingkungan sekitar bisa bertambah sejalan dengan pertambahan waktu. Semakin lama susu dibiarkan maka hal itu akan memberi kesempatan bakteri dalam susu untuk berkembang.

Hasil penelitian dapat dilihat total mikroba pada

dangke dengan perlakuan menggunakan larutan phosphate buffer dan larutan laktoferin tergolong tinggi. Pada jam ke 6 pada larutan menggunakan phosphate buffer memiliki jumlah mikroba 8,1 log CFU/ml sedangkan pada perlakuan menggunakan larutan laktoferin memiliki jumlah mikroba 7,4 log CFU/ml. Dangke masih layak untuk di konsumsi karena jumlah total mikroba pada dangke tidak melebihi ambang batas yang ditetapkan dalam *Appendix O-Department of Defense Food Safety and Quality Assurance Action Level* (2009) tentang batas maksimum cendawan kontaminan dalam produk susu (*solid* dan *semi-solid*) yaitu tidak melebihi 10 cfu/g. Tingginya mikroba dapat disebabkan oleh tingkat ke higienitas dari bahan dasar pembuatan dangke yaitu susu. Tingginya jumlah mikroba pada dangke dapat dipengaruhi oleh temperature.

Berdasarkan hasil penelitian larutan laktoferin berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) menurunkan jumlah total bakteri. Hal ini karena fungsi dari laktoferin dikenal sebagai anti microbial karena dapat mengikat Fe yang merupakan makanan utama bakteri. Laktoferin mampu menghambat aktifitas mikroba dan menyebabkan mikroba kehilangan kemampuannya untuk membentuk koloni dengan cepat. Hal ini sesuai dengan pendapat Connely (2001) Laktotransferin bersifat antimikroba karena mengandung asam amino glikoprotein-703 yang mempunyai kemampuan sangat tinggi dalam mengikat Fe dari bakteri sehingga akan menghambat pertumbuhan mikroba. Sifat bakteriostatik laktoferin berhubungan dengan aktifitas pengikat besi yang tinggi, yang mampu mengikat besi dari lingkungan mikroorganisme. Besi merupakan nutrisi penting untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri (Connely, 2001; Kanyshkova *et al.*, 2003).

#### Nilai pH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH pada dangke dengan perlakuan dalam larutan phosphate buffer dan laktoferin berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH. Nilai pH yang diperoleh dari hasil penelitian pada perlakuan A1 dan A2 adalah 6,91 dan 6,69. Nilai pH dangke masih sesuai dengan nilai pH produk pangan yaitu berkisar 6-7. Nilai pH pada dangke dengan perlakuan menggunakan phosphate buffer memiliki nilai pH yang lebih tinggi dibandingkan dengan laktoferin. Hal ini berbanding terbalik dengan total mikroba, Hal ini diduga karena pada jam ke 0 tanpa inkubasi merupakan nilai pH dari phosphate buffer dan laktoferin. Setelah jam 1- jam 6 phosphate buffer mengalami penurunan nilai pH. Hal ini dapat dilihat dengan meningkatnya total mikroba pada dangke dengan menggunakan phosphate buffer. Tetapi pada laktoferin terlihat konstan, hal ini dapat dilihat bahwa kenaikan pada total mikroba dengan menggunakan laktoferin tidak memperlihatkan kenaikan yang tinggi. Meskipun nilai pH pada phosphate buffer lebih tinggi tetapi masih dapat mempertahankan nilai pH karena fungsi dari phosphate buffer adalah sebagai larutan penyangga. Hal ini sesuai dengan pendapat Kalsum (2009) yang menyatakan bahwa buffer atau larutan penyangga merupakan larutan yang dapat mempertahankan pH nya bila ditambah sedikit asam kuat, basa kuat, atau diencerkan.

Lama penyimpanan jam ke 0 berpengaruh nyata

( $P > 0,05$ ) terhadap nilai pH pada jam ke 1, 2, 3, 4, 5, 6 berturut-turut 6,67, 6,86, 6,83, 6,85, 6,85, 6,76 dan 6,77. Pada jam ke 1 sampai jam ke 6 berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ). Pada jam ke 2 berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH pada jam ke 0,1,3,4,5,6. Pada jam ke 5 dan 6 mengalami penurunan nilai pH. Hal ini dimungkinkan selama penyimpanan pada suhu ruang bakteri berkembang biak menyebabkan terbentuknya asam laktat sehingga menyebabkan pH menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Erlina dan Zuraida (2008) bahwa semakin lama penyimpanan susu maka rata-rata derajat keasaman (pH) semakin menurun yang menunjukkan bahwa tingkat keasaman dalam susu semakin meningkat. Hal tersebut dikarenakan adanya aktivitas bakteri pembusuk asam laktat seperti *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus thermophilus*. Adanya asam laktat karena bakteri tersebut mengubah laktosa menjadi asam laktat dan menyebabkan penurunan pH susu.

#### Profil Protein

Berdasarkan hasil yang didapat diketahui bahwa protein yang ada pada dangke dengan perendaman menggunakan phosphate buffer menunjukkan adanya 4 jenis protein pada standar dengan menggunakan susu segar. Jenis protein dengan berat molekul 17 KDa (k-kasein), 30 KDa (immunoglobulin), 50 KDa (immunoglobulin). Sedangkan dangke dengan perlakuan menggunakan laktoferin masih menunjukkan adanya protein 17 KDa (k-kasein), 34 KDa (immunoglobulin) dan 80 KDa (laktoferin) (data tidak ditampilkan). Hal ini sesuai dengan pendapat Farrel *et al.*, (2004) bahwa kasein memiliki berat molekul 17-19 KDa, immunoglobulin memiliki berat molekul 25-70 KDa, sedangkan laktoferin memiliki berat molekul 80 KDa. Di tambahkan oleh Harper and Hall (1981) bahwa kasein terdiri dari fraksi protein penyusun seperti  $\alpha 1$ -kasein,  $\alpha 2$ -kasein, k-kasein,  $\beta$ -kasein dan  $\gamma$ -kasein. Protein dengan berat molekul yang lebih besar akan tertahan di atas, sedangkan protein dengan berat molekul yang lebih kecil akan tertahan di bawah. Hal ini menunjukkan bahwa larutan phosphate buffer dan laktoferin masih dapat mempertahankan keberadaan protein.

Semakin lama penyimpanan, konsentrasi protein terlihat semakin berkurang (semakin tipis ketebalan pita). Konsentrasi protein akan semakin berkurang akibat adanya denaturasi protein karena asam yang terbentuk secara alami akibat penyimpanan yang mengakibatkan bakteri asam laktat mendegradasi laktosa menjadi asam laktat dan mengakibatkan konsentrasi protein rendah. Konsentrasi yang rendah pada larutan akan menyebabkan pita atau *band* yang terbentuk setelah dielektroforesis tidak terlalu tebal. Semakin lama penyimpanan maka pita atau band yang terbentuk semakin tipis. Hal ini sesuai dengan pendapat Sandy (2009) menyatakan bahwa terjadi peningkatan total kandungan beberapa protein (konsentrasi dan jumlah pita protein) dan juga penurunan beberapa protein akibat adanya perlakuan.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa larutan laktoferin mampu menghambat

pertumbuhan mikroba dibandingkan dengan menggunakan larutan phosphate buffer. Total mikroba pada perlakuan menggunakan larutan fosfat buffer lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan menggunakan larutan laktoferin. Hal ini terlihat bahwa penurunan nilai pH pada larutan fosfat buffer lebih tinggi dibandingkan dengan larutan laktoferin yang cenderung konstan. Protein terbanyak yang tertangkap pada uji profil protein pada dangke yaitu kasein. Semakin lama penyimpanan maka konsentrasi protein akan semakin berkurang karena akibat dari adanya denaturasi protein karena asam yang terbentuk secara alami akibat penyimpanan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Al-Baarri, A. N., A.M. Legowo., M. Ogawa., and S. Hayakawa. 2011<sup>a</sup>. Application of an immobilized lactoperoxidase to continuous hypochlorite production. *Journal of Food Science (submitted)*.
- Appendix O- Department of Defense Food Safety and Quality Assurance Action Level (2009). *Dairy (other than cheese and milk products: solid and semi-solid dairy products)*. Code of Federal Regulation (USDA AMS), 7 CFR 58.528.
- Aslam M, Shahid M, Rehman FU, Murtaza M.A, Sharif F, Ata A, Noor S. 2012. Production Optimization and Characterization of Low Molekular Weight Bacteriocin from *Lactococcus Lactis* sub SP *Lactis*. *Afr. J. Mikrobiol. Res.*,6(30): 5924-5933.
- Bintoro, V. P. 2008. Teknologi Pengolahan Daging dan Analisis Produk Edisi 2. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Connely, O. M. 2001. Review : Antiinflammatory activities of Lactoferrin. *Journal of the American College of Nutrition*. 20 (2):389S-395S.
- Erlina, S dan A. Zuraida. 2008. Derajat Keasaman dan Angka Reduktase Susu Sapi Pasteurisasi dengan Lama Penyimpanan yang Berbeda. Volume 23 Nomor 3. Hal: 185-194.
- Farrel, H. M. Jr, R. Jimenez-Flores, G. T. Bleck, E. M. Brown, J. E. Butler, L. K. Creamer, C. L. Hicks, C. M. Hollar. K. F. NG-KWAI-HANG and H.E. Swaisgood. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk--sixth revision. *J. Dairy Sci.* 87: 1641 – 1674.
- Hames, D, Hooper, N. 2005. *Biochemistry 3th*. Taylor and Francis, New York.
- Harper, W. J. and E.W. Hall. 1981. *Dairy Technology and Engineering*. AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut.
- Kalsum, U. 2009. Analisis Usahatani Nanas dan Prospektif Petani Terhadap Usahatani Nanas di Kecamatan Kotabumi Lampung Utara. *Jurnal Ilmiah Esai* 3: 355-361.
- Kanyshkova, T. G., S. E. Rabina, D. V. Semenov, N. Isaeva, A. V. Vlassov, K. N. Neustroev, A. A. Kulminskaya, V. N. Buneva and G. A. Wevinsky. 2003. Multiple enzymatic of human milk lactoferrin. *Eur. J. Biochem.* 270: 3353-3361.
- Sandy, N. J., Tutik Nurhidayati dan Kristanti Indah Purwani. 2009. Profil Protein Tanaman Kiambang (*Salvinia molesta*) yang Dikulturkan Pada Media Modifikasi Air Lumpur Sidoarjo. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Suriawiria, U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung