

**PERANAN STRAIN-STRAIN *Pseudomonas aureofaciens* DAN
Ps. putida PADA UJI ORGANOLEPTIS DAN KOMPONEN
FLAVOR SUSU SKIM YANG DISIMPAN**

**THE ROLE OF STRAINS *Pseudomonas aureofaciens* AND *Ps. putida*
TO THE ORGANOLEPTIC EVALUATION AND FLAVOUR
COMPOUNDS IN STORED SKIM MILKS**

Tatik Khusniati

Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi, LIPI

ABSTRACT

Pseudomonas aureofaciens and *Ps. putida* were found in spoiled skim milks. To know the type of spoilage, due to activities of these two species, the role of *Ps. aureofaciens* and *Ps. putida* to organoleptic evaluation and flavour compounds of skim milks stored at 4°C, for 10 and 20 days, after the use by date, were observed. Uninoculated skim milks, were used as control. Organoleptic evaluation were assessed by experienced panelists. Gas Chromatography Mass Spectrometry, retention times (r.t), 5-15' and 15-30', were used to detect the flavour compounds. The results showed that after storage 10 and 20 days, organoleptic scores of skim milks decreased, flavours were stale/rotten, and arbitrary units (a.u.) >50 of majority flavour compounds increased, compared with control. The higher units of flavour compounds of skim milks, inoculated *Ps. aureofaciens*, stored 10 and 20 days, than of control (a.u. > 1000), were mercapto-acetic acid, r.t. 5.97' (6066 a.u., 10 days, and 2109 a.u., 20 days), and 4-methyl-2-pentanone, r.t. 16.29' (1401 a.u., 10 days, and 1196 a.u., 20 days). While the higher units of flavour compounds, inoculated *Ps. putida*, stored 10 days, were mercapto-acetic acid (3189 a.u., r.t. 5.97'), 4-methyl-2-pentanone (2633 a.u., r.t. 16.31'), and ethyl-butanoate (4753 a.u., 19.44'), and stored 20 days, was mercapto-acetic acid (4910 a.u., r.t. 5.97'). The organoleptically decrease of flavours, and increase of majority flavour compounds units of inoculated skim milks at storage, compared with control, showed the change of quality of stored skim milks, due to activities of *Ps. aureofaciens* and *Ps. putida*.

Key word: skim milk, *Ps. aureofaciens*, *Ps. putida*, flavour

ABSTRAK

Pseudomonas aureofaciens dan *Ps. putida* ditemukan dalam susu skim yang rusak. Untuk mengetahui jenis kerusakan susu skim, akibat aktivitas kedua species tersebut, peranan *Ps. aureofaciens* dan *Ps. putida*, terhadap uji organoleptis dan komponen flavor susu skim disimpan pada 4°C, selama 10 dan 20 hari setelah waktu kadaluwarsanya, diamati. Susu skim tanpa diinokulasi, disimpan pada waktu dan suhu yang sama, digunakan sebagai kontrol. Evaluasi organoleptis dilakukan oleh panelis berpengalaman. Gas Chromatography-Mass Spectrometry, waktu retensi (w.r.) 5-15' dan 15-30' digunakan sebagai metoda pendeteksi komponen flavor susu skim. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setelah penyimpanan susu skim 10 dan 20 hari, angka uji organoleptis susu menurun, disertai bau susu semakin

basi/busuk, dan arbitrary unit (a.u) >50 sebagian besar komponen flavor susu skim, menaik bila dibandingkan kontrol. Komponen flavor susu skim, diinokulasi *Ps. aureofaciens*, disimpan 10 dan 20 hari, menunjukkan nilai lebih tinggi, dibandingkan kontrol (dengan a.u. > 1000), adalah mercapto-acetic acid, w.r. 5,97' (6066 a.u., 10 hari, dan 2109 a.u., 20 hari), dan 4-methyl-2-pentanone, w.r. 16,29' (1401 a.u., 10 hari, dan 1196 a.u., 20 hari). Sedangkan komponen flavor susu skim, diinokulasi *Ps. putida*, disimpan 10 hari, menunjukkan nilai lebih tinggi, adalah mercapto-acetic acid (3189 a.u., w.r. 5,97'), 4-methyl-2-pentanone (2633 a.u., w.r. 16,31'), dan ethyl-butanoate (4753 a.u., 19,44'), dan yang disimpan 20 hari, adalah mercapto-acetic acid (4910 a.u., w.r. 5,97'). Penurunan flavour susu skim secara organoleptis, dan kenaikan sebagian besar unit komponen flavor susu skim setelah diinokulasi dan disimpan, dibandingkan kontrol, menunjukkan perubahan kualitas susu skim yang disimpan, akibat aktivitas *Ps. aureofaciens* dan *Ps. putida*.

Kata kunci : susu skim, *Ps. aureofaciens*, *Ps. putida*, flavor

PENDAHULUAN

Susu skim mengalami kerusakan setelah disimpan beberapa hari, pada suhu rendah, disebabkan oleh aktifitas *Pseudomonas* spp. (Janzen *et al.* 1982), dan *Ps. fluorescense* adalah strain terbanyak (Juffs, 1973). Species lain dari *Pseudomonas* yang didapatkan pada susu skim adalah *Ps. putida* dan *Ps. aureofaciens* (Ngi (1991).

Ngi (1991) melaporkan bahwa aroma yang tidak enak dari susu skim yang disimpan, seperti rasa pahit dan bau busuk, disebabkan adanya kerusakan komponen-komponen flavor susu, yang disebabkan oleh aktifitas bakteri (Bading, 1991). Aldehyde, ketone dan alkohol yang terdapat pada susu yang belum rusak, akan mengalami kenaikan konsentrasinya setelah susu mengalami kerusakan (Vallejo-Cordoba dan Nakai, 1994). Ethanol, acetaldehyde, propanol didapatkan pada susu yang telah mengalami kerusakan dan berhubungan dengan adanya *Ps. fluorescens* (Urbah and Milne, 1987)

Tulisan ini melaporkan hasil-hasil uji organoleptis dan deteksi komponen-komponen flavor susu skim yang disimpan, dan diinokulasi *Ps. aureofaciens* dan *Ps. putida*, pada suhu 4°C.

BAHAN DAN METODA

Uji organoleptis susu skim inokulasi *Pseudomonas*.

Tiap 100 mL dari satu liter karton susu skim dipindahkan secara aseptis kedalam botol steril 200 mL dan dipasteurisasi pada 65°C selama 15 menit. *Pseudomonas aureofaciens* dan *Ps. putida* dari biak agar miring, diinokulasikan kedalam 100 mL susu skim, dengan

menggunakan loop logam steril, dengan sampel susu skim yang tidak diinokulasi sebagai kontrol. Sampel-sampel kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 10 dan 20 hari. Uji organoleptis sampel-sampel susu skim yang sudah disimpan, dilakukan oleh dua panelis yang sudah berpengalaman.

Sel-sel bakteri dipindahkan dari sampel susu yang diinkubasi dengan menggunakan sentrifus 10.000 rpm selama 10 menit pada 5°C. Supernatan-supernatan dikumpulkan dan disimpan pada -20°C dalam botol steril, sampai siap digunakan untuk analisa komponen-komponen flavor. 100 mL masing-masing supernatan dipindahkan ke botol "headspace" yang terpisah, dan masing-masing botol diinjek helium.

Analisa komponen-komponen flavor dengan menggunakan GC-MS

Komponen-komponen flavor dari semua supernatan dari susu skim dianalisa dengan GC-MS. Analisa dikerjakan dengan menggunakan Shimadzu GC9 gas-liquid Chromatograph, yang dilengkapi dengan peralatan "flame ionisation detector" (FID), "a bonded phase vitreous silica capillary column", dan a Finnigan-MAT Model 700 ion-trap detector (ITD) (Wood dan Aston, 1994).

Hasil dan Pembahasan

Uji organoleptis pada susu skim yang diinokulasi *Ps. aureofaciens* dan *Ps. putida*, disimpan 10 dan 20 hari, menunjukkan bahwa angka organoleptis pada susu skim diinokulasi, menunjukkan nilai lebih rendah dibandingkan kontrol, disertai perubahan rasa dari baik menjadi pahit/busuk dan basi (Tabel 1).

Tabel 1. Uji organoleptis susu skim diinokulasi strain-strain *Ps. aureofaciens* dan *Ps. putida* dibandingkan kontrol, dalam penyimpanan 0, 10 dan 20 hari.

Strain-strain <i>Pseudomonas</i>	Susu skim					
	0 hari		10 hari		20 hari	
Kontrol	8.5	baik	7	basi (+1)	5	basi (+2)
<i>Ps. aureofaciens A</i>	8	baik	4.5	pahit	0	pahit/busuk
<i>Ps. aureofaciens B</i>	8	baik	4.5	pahit	0	pahit/busuk
<i>Ps. putida A</i>	8.5	baik	6.5	basi (+1,5)	4	basi (+3)
<i>Ps. putida B</i>	8.5	baik	6.5	basi (+1,5)	3.5	basi (+3)

Bading (1991) melaporkan bahwa peptida-peptida dengan rasa sangat pahit dapat terbentuk dari protein susu karena aktifitas enzim protease dari bakteri. Pemecahan peptida-

peptida yang dihasilkan oleh asam-asam amino, dan α - asam-asam keto dari asam-asam amino, menghasilkan aldehide, dan senyawa-senyawa alkohol, sedangkan asam-asam dapat dibentuk dari aldehide.

Pada penyimpanan susu skim diinokulasi *Ps. aurofaciens*, 10 dan 20 hari, w.r. 5-30', komponen-komponen flavor (a.u. >1000)) mercapto-acetic acid dan 4-methyl-2-pentanone, menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan kontrol. Komponen-komponen flavor lain dalam susu skim (a.u. >50) adalah adalah ethanol, ethyl-butanoate, camphene, acetaldehyde, acetone, 2-propanol, methyl-sulphide, dan ethyl acetate, menunjukkan nilai unit lebih tinggi dibandingkan kontrol (Tabel 2-3).

Table 2. Komponen flavor susu skim diinokulasi *Ps. aureofaciens*, dibandingkan kontrol, dalam penyimpanan 10 hari, waktu retensi 5-30 menit (arbitrary units).

Komponen flavor	Susu skim		
	waktu retensi	kontrol	diinokulasi
Ethanol	5.61	31	275
Mercapto-acetic acid	5.97	128	6066
2-Butanone	9.26	206	123
Ethyl-acetate	10.09	98	65
4-Methyl-2-pentanone	16.29	34	1401
Ethyl-butanoate	19.44	-	159
Camphene	27.64	-	79

Table 3. Komponen flavor susu skim diinokulasi *Ps. aureofaciens*, dibandingkan kontrol, dalam penyimpanan 20 hari, waktu retensi 5-30 menit (arbitrary units).

Komponen flavor	Susu skim		
	waktu retensi	kontrol	diinokulasi
Acetaldehyde	5.04	65	145
Mercapto-acetic acid	5.97	-	2109
Acetone	6.23	84	145
2-Propanol	6.52	-	181
Methyl-sulphide	7.11	-	69
Ethyl-acetate	10.09	-	194
4-Methyl-2-pentanone	16.29	6	1196
Ethyl-butanoate	19.44	-	61

Pada penyimpanan susu skim diinokulasi *P. putida*, 10 dan 20 hari, w.r. 5-30', komponen-komponen flavor (a.u. >1000) mercapto-acetic acid, 4-methyl-2-pentanone, dan ethyl-butanoate, menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan kontrol. Komponen-komponen

flavor lain dalam susu skim (a.u. >50) adalah acetaldehyde, ethyl-acetate, 2-pentanone, 4-methyl-2-pentanone, α -pinene dan myrcene, menunjukkan nilai unit lebih tinggi dibandingkan kontrol (Tabel 4-5).

Table 4. Komponen flavor susu skim diinokulasi *Ps. putida*, dibandingkan kontrol, dalam penyimpanan 10 hari, waktu retensi 5-30 menit (*arbitrary units*).

Komponen flavor	Susu skim		
	waktu retensi	kontrol	Diinokulasi
Acetaldehyde	5.08	9	93
Ethanol	5.62	31	-
Mercapto-acetic acid	5.97	128	3189
2-Butanone	9.24	206	7
Ethyl-acetate	10.14	98	186
2-Pentanone	13.23	-	54
4-Methyl-2-pentanone	16.31	34	2633
Ethyl-butanoate	19.44	-	4753

Table 5. Komponen flavor susu skim diinokulasi *Ps. putida*, dibandingkan kontrol, dalam penyimpanan 20 hari, waktu retensi 5-30 menit (*arbitrary units*).

Senyawa kimia	Susu skim		
	waktu retensi	kontrol	diinokulasi
Acetaldehyde	5.08	65	241
Ethanol	5.62	106	49
Mercapto-acetic acid	5.97	-	4910
Acetone	6.25	84	-
4-Methyl-2-pentanone	16.32	6	352
α -Pinene	27.02	-	687
Myrcene	29.02	-	64

Kenaikan unit-unit komponen-komponen flavor pada susu skim setelah diinokulasi dan disimpan, dibandingkan kontrol (Tabel 2-5), kemungkinan disebabkan karena adanya aktivitas enzim dari *Ps. aurofaciens* dan *Ps. putida* yang diinokulasikan kedalam susu skim.

Hal tersebut sejalan dengan ditemukannya komponen-komponen flavor dari susu yang sudah rusak, seperti acetaldehyde, methyl-sulfide, pentanal dan hexanal, yang didapatkan pada susu pasteurisasi setelah penyimpanan selama 3-4 minggu, dimana bakteri "psychrotroph" terjadi pada susu simpan ini (Bassette, *et al.* 1982).

Senyawa-senyawa lain, seperti methylbutanal/3-methyl-butanal, 2-propanol, 2-methyl-1-butanol/3-methyl-1-butanol, ethyl hexanoate, ethyl butanoate, 1-propanol, 2-methyl-

propanol, 1-butanol dan 2-butanol didapatkan dalam susu pasteurisasi yang sudah mengalami kerusakan. Semua komponen-komponen ini berhubungan dengan bakteri “ psychrotroph” (Vallejo-Cordoba dan Nakai, 1994), sedangkan senyawa- senyawa ethanol, acetaldehyde dan propan-2-ol, yang ditemukan dalam susu pasteurisasi yang sudah rusak, berhubungan erat dengan adanya *Pseudomonas fluorescens* (Urbach dan Milne, 1987).

KESIMPULAN

Adanya penurunan angka organoleptis, perubahan rasa pahit/busuk/ basi , dan adanya kenaikan unit-unit (a.u.>1000) mercapto-acetic acid, 4-methyl-2-pentanone, ethyl-butanoate, dan komponen-flavor lain (a.u.>50) pada susu skim yang disimpan, setelah diinokulasi, menunjukkan adanya degradasi komponen-komponen susu skim akibat aktifitas *P. aurofaciens* dan *P. putida*, yang menyebabkan kerusakan susu.

DAFTAR PUSTAKA

- Bading, H.T. (1991) Milk. In “Volatile Compounds in Foods and Beverages”. TNO-CIVO Food Analysis Institute. Zeist, The Netherlands.
- Bassette, R., Fung, D.Y.C., Roberts, H. and Ward, G. (1982) A Survey of Milk Flavor and Quality. *Journal of Food Protection* **45**. 135-138
- Janzen, J.J.’ Bishop, J.R. and Bodine, A.B. (1982) Relationship of protease activity to shelf-life of skim and whole milk. *J. Dairy Science*. **65**. 2237-40
- Juffs, H.S. (1973) Identification of *Pseudomonas* spp. isolated from milk packed in south-east Queensland. *J. Appl. Bacteriology*. **36** 585-598
- Ng, S.Y. (1991) Improved shelf life and quality of liquid milk products. Master of Applied Science. Thesis. RMIT. Melbourne.
- Urbach, G. and Milne, T. (1987) The Concentration of Volatiles in Pasteurised Milk as a Function of Storage Time and Temperature - a Possible Indicator of Keeping Quality. *Australian Journal of Dairy Technology*.
- Vallejo-Cordoba, B. and Nakai. S. (1994) Keeping Quality Assessment of Pasteurised Milk by Multivariate Analysis of Dynamic Headspace Gas Chromatographic Data 2. Flavour Classification by Linear Discriminant Analysis. *J. Agric. Food Chem* **42**. 994-999
- Wood, A.K. and Aston, J.W. (1994) A cold-trap method for the collection and determination of head space compounds from cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* **49**. 42-47