

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Sawi Asin

by Ni Made Indri Hapsari Arihantana

FILE	41-50_INDRI_MITP_MARET_2015.PDF (1.05M)		
TIME SUBMITTED	05-FEB-2016 02:23PM	WORD COUNT	3996
SUBMISSION ID	628140280	CHARACTER COUNT	23191

ISSN: 2407-3814 (*print*)

ISSN: 2477-2739 (*e-journal*)

MEDIA ILMIAH TEKNOLOGI PANGAN

21

9

Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Pangan

Volume 2, No. 1, Maret 2015, Hal. 001 – 088



2



Program Magister Ilmu dan Teknologi Pangan
Program Pascasarjana - Universitas Udayana

Media Ilmiah Teknologi Pangan

PEMIMPIN UMUM

Dr. Ir. I Nengah Kencana Putra, MS.

DEWAN REDAKSI

5 Ketua

Prof. Ir. Nyoman Semadi Antara, MP., Ph.D.

Anggota

Prof. Dr. Ir. I Ketut. Suter, MS.

Prof. Dr. Ir. GP Ganda Putra, MP

Ir. I Made Anom Sutrisna W., M.App.Sc., Ph.D.

Dr. Ir. Ida Bagus Putu Gunadnya, MS.

Dr. Ir. IDG. Mayun Permana, M.S.

REDAKSI PELAKU KEGIATAN 15

Dr. Ir. Ni Made Wartini, MP

I Putu Supartha, SP., M.Agr., Ph.D.

Made Insani Utami

2 PENGELOLA

Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Pangan

Program Pascasarjana Universitas Udayana

ALAMAT REDAKSI

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar-Bali

Telp. 0361-223797/0361-247962 ext: 128

E-mail: mediatekpangan@gmail.com

MITRA BESTARI

2

Prof. Ir. I N Semadi Antara, M.P., Ph.D.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

HASHIMOTO, Masayuki.

Institute of Molecular Medicine and

Center for Infectious Disease and Signaling Research,

Medical School, National Chengkung University

Prof. Dr. Ir. I Ketut Suter, M.S.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Prof. Dr. Ir. GP Ganda Putra, M.P.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Dr. Ir. IDG. Mayun Permana, M.S.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Ir. I Nengah Sujaya, M.Agr.Sc., Ph.D.

Fakultas Ilmu Kesehatan Masyarakat, Universitas Udayana·Denpasar

Ir. I Made Anom Sutrisna W., M.App.Sc., Ph.D.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Ir. I.B.W.Gunam, M.P., Ph.D.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Dr. Ir. Luh Putu Wrasiati, M.P.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

I Putu Supartha, S.P., M.Agr., Ph.D.

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana·Denpasar

Media Ilmiah Teknologi Pangan

Volume 2, No. 1, Maret 2015, Hal. 001-088

ISSN: 2407-3814 (*print*); 2477-2739 (*e-journal*)

Hasil Penelitian

- Studi Konsentrasi Amiloglukosidase dan *Saccharomyces cereviseae* 001-009
Dalam Produksi Bioetanol Dari Ubi Jalar Melalui Sakarifikasi Fermentasi Simultan.
The Study on Amiloglucosidase Concentration and Saccharomyces cereviseae in Bioethanol Production from Cassava through Simultaneous Saccharification Fermentation
Bambang Admadi Harsojuwono, I Wayan Arnata, I Wayan Gede Sedana Yoga
- Tingkat Infeksi Bakteri Patogen pada Daging Babi di Pasar Tradisional di Wilayah Kota Denpasar. 010-015
Infection Level of Pathogenic Bacteria in Pork at Traditional Market in Denpasar
Ni Nyoman Puspawati, Komang Ayu Nocianitri dan Nyoman Semadi Antara
- Komposisi Kimia Absolut Minyak Atsiri Daun Pandan Wangi Hasil Perlakuan Curing 016-022
The Chemical Absolute Composition of Pandan Wangi's Essential Oil Resulting from Curing Treatment
Ni Made Wartini, G.P. Ganda Putra, Putu Timur Ina
- Formulasi Susu Skim dan Susu Kedelai dalam Pembuatan Yoghurt 023-028
Skim milk and Soy milk Formulation on Yoghurt Production
I Nengah Kencana Putra
- Kajian Aktivitas Antibakteri Minyak Daun Sereh (*cymbopogon citratus*) 029-040
Pada Adonan Sate Lilit Ikan Laut
Antibacterial Activity of Lemongrass Oil (Cymbopogon citratus) on Traditional Fish Satay Dough
Dewa Nyoman Adi Paramartha, I Nengah Kencana Putra dan Nyoman Semadi Antara

10

14 Isasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat *Indigenous Dari Sawi Asin*

041-050

Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From "Sawi Asin"

(Fermented Vegetable)

Ni Made Indri Hapsari Arihantana dan Desak Putu Kartika Pertiwi

7

Kandungan Komponen Serat Tepung Rebung Bambu Tabah

051-057

(Gigantochloa nigrociliata buse-kurz)

The contents of fiber component in the flour of Tabah bamboo shoot

D.H. Dyah Puspaningrum, N.Semadi Antara dan IB.W. Gunam

Pendugaan Masa Kadaluarsa Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Instan pada Beberapa Bahan Kemasan

058-068

*The Shelf Life Estimating of Instant Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)*

Using Several Packaging Materials

Pande P. Elza Fitriani, I Made Anom S. WIjaya, dan I. B. W. Gunam

Antioxidant Activity and Bioactive Compound in a Functional Instant

069-077

Drink Made from Mangosteen Peel and Rosella Extract

Aktivitas antioksidan dan Senyawa Bioaktif yang Terkandung dalam Minuman Fungsional dari Ekstrak Kulit Manggis dan Rosela.

Dewa Ayu Anom Yuarini dan Luh Putu Wrasiati

Pemotongan dan Menyambung DNA dalam Kloning Gen, Studi pada Kloning Gen Prolidase dari Bakteri Asam Laktat

078-088

DNA Restriction and Ligation in Gene Cloning, a Study Case in Prolidase Gene Cloning from Lactic Acid Bacteria

Ketut Suriasih

10

Iso 14 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat *Indigenous* dari Sawi Asin
Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From "Sawi Asin"
(Fermented Vegetable)

20 Made Indri Hapsari Arihantana* dan Desak Putu Kartika Partiwi
PS Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana,
Jl Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali.

Diterima 7 Januari 2015 / Disetujui 21 Januari 2015

ABSTRACT

“Sawi asin” (fermented vegetable) is a fermented product of vegetables which occur naturally (*indigenous*). Sawi asin has a longer shelf life than fresh or raw vegetables; due to a certain lactic acid bacteria (LAB) presence in sawi asin which produces bacteriocin which destroy bacteria that causes food to spoil.

The research was carried out to isolate and identify LAB species in sawi asin (sawi asin produced by MS, Malang; sawi asin produced by Niki Echo Surabaya and sawi asin produced by Wahana Boga Malang, East Java). The LAB characteristics such as cell morphology, Gram staining, motility, catalase, and gas production from glucose were observed. Identification of LAB species was carried out by using kit equipment (sets) API 50 CH and API 50 CHL medium version 5.1 continued by data analysis using APIWEB software.

Result of research obtained were 21 LAB isolates (*indigenous*). The kit set used succeeded in identifying one LAB species, *Lactobacillus fermentum* I with five strains: *L. fermentum* I SAA1, *L. fermentum* I SAA2, *L. fermentum* I SAA4, *L. fermentum* I SAB1, and *L. fermentum* I SAC1.

Keywords: sawi asin, lactic acid bacteria, *Lactobacillus fermentum* I

* Korespondensi penulis :
Email: mdindri@yahoo.com

ABSTRAK

Sawi asin merupakan produk fermentasi sayuran sawi yang berlangsung secara alami (*indigenous*). Sawi asin mempunyai daya guna dan daya simpan yang lebih lama dari sawi segar. Hal ini dikarenakan adanya bakteri asam laktat (BAL) dengan spesies tertentu yang memproduksi bakteriosin yang mampu membunuh bakteri perusak.

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi spesies BAL sawi asin (Sayur Asin Sawi Asin yang diproduksi MS Malang Jawa Timur, Sayur Asin Renyah yang diproduksi Niki Echo Surabaya Jawa Timur, dan Sayur Asin Sawi Mas yang diproduksi Wahana Boga Malang Jawa Timur) dengan karakteristiknya yang meliputi morfologi sel, pewarnaan Gram, uji motilasi, katalase, produksi gas dari glukosa. Identifikasi spesies BAL dilakukan dengan menggunakan perangkat kit API 50 CH dan API 50 CHL medium versi 5.1 yang dilanjutkan dengan analisis data dengan menggunakan *software* APIWEB.

BAL *indigenous* yang diperoleh dari hasil penelitian ini sebanyak 21 isolat. Hasil identifikasi menggunakan perangkat kit API 50 CH dalam penelitian ini diperoleh satu spesies BAL yaitu *Lactobacillus fermentum* 1 dengan lima strain: *L. fermentum* 1 SAA1, *L. fermentum* 1 SAA2, *L. fermentum* 1 SAA4, *L. fermentum* 1 SAB1, dan *L. fermentum* 1 SAC1.

Kata kunci: sawi asin, bakteri asam laktat, *Lactobacillus fermentum* 1

PENDAHULUAN

Sawi asin merupakan suatu produk hasil fermentasi sawi putih atau sawi Cina (*Brassica rapa L.*) sebagai bahan utama dengan penambahan garam melalui perendaman dalam larutan garam dan dapat juga ditambahkan air tajin dan air kelapa sebagai sumber karbohidrat bagi bakteri yang berperan. Fermentasi berlangsung secara alami dalam waktu tertentu oleh bakteri asam laktat (*indigenous*). Sawi asin diproduksi melalui proses yang sederhana yang sudah dilakukan sejak lama secara tradisional oleh masyarakat terutama masyarakat Tionghoa. Fermentasi dilakukan oleh bakteri asam laktat tertentu secara alami (*indigenous*), tanpa penambahan kultur bakteri asam laktat.

Di Indonesia banyak dijumpai produk hasil fermentasi seperti: sawi asin, sauerkraut, *kimchi*, acar, tempe, tauco, kecap, brem, dan terasi. Di Asia Timur terdapat produk *kimchi* (Korea), *hum choy* (Cina), dan *pak-siam-dong* (Thailand). Di Eropa dan Amerika terdapat produk sauerkraut (Steinkraus, 1996).

Produk-produk hasil fermentasi menjadi awet karena adanya aktivitas antimikroba dari bakteri asam laktat. Bakteri ini menghasilkan bahan kimia yang sangat berguna dalam fermentasi, sebab bahan kimia ini dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri tertentu yang tidak diharapkan. Bahan-bahan antimikroba ini berupa asam-asam organik dan komponen lainnya seperti bakteriosin dan peptida antifungus (De Vuyst dan Leroy, 2007).

Informasi mengenai bakteri asam laktat yang terdapat pada sawi asin yang diperdagangkan tidak banyak bisa dijumpai termasuk karakteristik dan spesies bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi.

Berdasarkan hal tersebut di atas perlu dilakukan penelitian pada produk sawi asin yang diperdagangkan untuk mengetahui karakteristik dan spesies bakteri asam laktat yang terdapat dalam sawi asin.

4

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sawi asin yang diproduksi dari tiga perusahaan yang berbeda yaitu: Sayur Asin Sawi Asin yang diproduksi MS Malang Jawa Timur, Sayur Asin Renyah yang diproduksi Niki Echo Surabaya Jawa Timur, dan Sayur Asin Sawi Mas yang diproduksi Wahana Boga Malang Jawa Timur. Sampel sawi asin tersebut diperoleh di supermarket Tiara Grosir Jl. Cokroaminoto, Denpasar. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji mikrobiologi dan identifikasi BAL adalah: aquades, MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) (Oxoid), BCP (*Bromo Cresol Purple*), *bacteriological peptone* 0,1%, gliserol 30%, MRS broth (Oxoid dan Pronadisa), *anaerob gas generating kit* (Oxoid), alkohol 70% (Brataco Chemika), gram Stein (Bio analitika) yaitu: larutan kristal violet, larutan lugol, aseton alkohol, dan safranin. Selain itu digunakan larutan Hidrogen ²⁶ roksida (H_2O_2) 3% (Reidel de Haen), HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, medium SIM (*Sulphide Indole and Motility*) (Oxoid), glukosa

(Oxoid), NaCl 6,5% dan 18%, dan kit mikrobiologi standar API 50CH dan API 50CHL medium versi 5.1 (Biomerieux).

11

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif yang menggunakan ^d 5 in eksperimen di laboratorium. Data dikumpulkan dengan cara pengamatan langsung setelah obyek penelitian diberikan perlakuan, kemudian melakukan serangkaian pengujian.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara bertahap yaitu meliputi tahap analisis mikrobiologi dan tahap isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat sampai tingkat spesies.

Analisis Mikrobiologis

Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Total bakteri asam laktat ditentukan dengan menggunakan metode tuang (Fardiaz, 1993, Lay 1994). Sebanyak 10 g sampel sa²⁵ asin yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam botol pengencer yang telah berisi 90 ml larutan *bacteriological peptone* 0,1% steril, lalu dihomogenkan sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} , selanjutnya dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah trisi 9 ml *bacteriological pepton* 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Demikian seterusnya dengan cara yang sama untuk mendapatkan pengenceran yang lebih besar. Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan media MRSA

(de Man Rogosa Sharpe Agar) bersuhu 40 - 45°C (ditempatkan dalam waterbath) sebanyak 20 ml yang sudah ditambahkan *bromocresol purple* (BCP) sebanyak 60 ppm (sampai berwarna ungu) sebagai indikator pH dan dibiarkan memadat. Cawan petri yang sudah ditanami selanjutnya diinkubasi ke dalam inkubator dengan cara terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, apabila positif mengandung bakteri asam laktat maka pada media agar akan terjadi perubahan warna menjadi kuning terang, karena terjadi perubahan warna indikator BCP dari ungu menjadi kuning pada pH rendah (Fardiaz, 1993). Koloni-koloni yang tumbuh pada agar cawan petri dihitung dengan *Quebec Colony Counter* sebagai total bakteri asam laktat per gram sawi asin dengan mengalikan jumlah koloni per cawan dengan besarnya pengenceran, yang selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap koloni-koloni bakteri asam laktat dengan metode goresan pada media MRSA untuk keperluan identifikasi. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh diambil satu ose dan digoreskan ¹⁷ da media tersebut, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam, sehingga diperoleh isolat murni. Isolat murni tersebut disimpan pada suhu -20°C setelah diberi gliserol 30%.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Isolat bakteri asam laktat dikarakterisasi berdasarkan penotipe yang meliputi: morfologi sel bakteri, pewarnaan gram, uji motilasi, uji katalase, uji produksi gas dari glukosa,

pertumbuhan pada perbedaan suhu, konsentrasi garam dan pH. Adapun prosedur identifikasi berdasarkan penotipe (Wibowo dan Ristanto, 1988) adalah sebagai berikut:

Uji Morfologi Sel dan Pewarnaan Gram²⁴

Isolat dari MRSA diinokulasi ke dalam MRS *broth* dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pewarnaan gram diawali dengan membuat preparat ulas yaitu dengan cara: kaca objek dibersihkan dengan sepotong kapas yang dibasahi alkohol, tabung berisi suspensi bakteri dikocok, diambil satu mata ose suspensi dan dipindahkan ke bagian tengah kaca objek dan diulaskan kemudian dibiarkan mengering di udara beberapa saat. Preparat selanjutnya difiksasi di atas api untuk membunuh dan melekatkan bakteri pada kaca objek. Diberi larutan kristal violet (sebagai zat warna) selama satu menit, dicuci dengan air kemudian diberikan larutan lugol (mordant) selama satu menit. Preparat dibilas dengan air kemudian diberikan larutan pemucat (aseton alkohol) selama 10 – 20 detik, kemudian dicuci kembali dengan air. Setelah itu preparat diberi larutan safranin selama 15 detik dan dicuci kembali dengan air kemudian dikeringkan. Preparat kemudian ditetesi dengan minyak emersi. Uji morfologi dilakukan dengan diperiksa dibawah mikroskop cahaya pada pembesaran 100X. Hasil pengamatan berupa warna, morfologi bakteri, dan sifat gram (warna ungu kebiruan menunjukkan bakteri gram positif, sedangkan warna merah atau merah muda menunjukkan bakteri bersifat gram negatif) (Lay, 1994).

Uji Motilasi

Biakan diinokulasikan pada media tegak semi padat (SIM medium) dengan cara menusukannya sampai k₁₇ laman $\frac{3}{4}$ dari permukaan media, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Hasil pengamatan berupa letak pertumbuhan bakteri pada media. Bakteri yang hanya tumbuh di sekitar tusukan menunjukkan hasil uji yang negatif, sedangkan bakteri yang tumbuh pada permukaan atau menyebar luas pada media menunjukkan hasil uji positif (Lay, 1994).

Uji Katalase

Pengujian katalase dilakukan dengan meneteskan larutan H₂O₂ 3% di atas kaca objek, kemudian satu ose isolat bakteri asam laktat yang diuji diambil dan dimasukkan ke dalam larutan H₂O₂ 3% yang ada di atas kaca objek tersebut. Hasil pengujian dinyatakan positif bila ditandai dengan adanya gelembung-gelembung gas pada koloni bakteri asam laktat, sedangkan apabila tidak terbentuk gas maka hasil pengujian dinyatakan negatif (Fardiaz, 1992; Lay, 1994).

Uji Produksi Gas dari Glukosa

Uji produksi gas dari glukosa dilakukan untuk mengetahui bakteri asam laktat tersebut bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham diisi 5 ml MRS broth (*broth* mengandung 2% glukosa) dengan indikator BCP. Diinokulasikan satu ose isolat bakteri asam laktat, kemudian diinkubasikan aerob pada inkubator bersuhu 37°C selama 24-48 jam. Apabila

positif terbentuk CO₂ maka pada tabung durham terlihat gelembung-gelembung udara dan media berubah warna menjadi kuning (Fardiaz, 1992; Lay, 1994).

Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Untuk mengidentifikasi spesies bakteri asam laktat digunakan kit mikrobiologi *Standard Analytical Profile Index* (API) 50CH dan API 50CHL medium versi 5.1 yang mengandung 49 jenis gula dan turunannya (Biomerieux). Sebelum dilakukan pengujian dalam API 50CH dilakukan tahapan persiapan sebagai berikut:

3

1. Penyegaran Isolat Bakteri Asam Laktat
Stok isolat bakteri asam laktat yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -20°C dan merupakan hasil isolasi dari sawi asin diambil sebanyak satu loop ose dan diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media MRS broth. Tabung reaksi diinkubasikan secara aerob selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif tumbuh ditunjukkan oleh timbulnya kekeruhan pada media. Untuk memastikan bahwa isolat dalam keadaan murni kemudian kultur pada MRS broth ditumbuhkan kembali pada MRSA dengan metode gores sehingga diperoleh koloni tunggal yang terpisah dari suspensi. Single colony ini kemudian diinokulasikan ke dalam 5 ml MRS broth lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi yang meliputi uji gas, katalase, pengecatan gram, dan morfologi sel untuk memastikan bahwa isolat tidak mengalami perubahan.

Apabila dibutuhkan suspensi ini juga dapat digunakan untuk membuat stok kultur dengan menambahkan 1 ml kultur isolat dengan 1 ml gliserol 30% kemudian disimpan kembali pada suhu -20°C (Lay, 1994).

16

2. Persiapan Suspensi Bakteri Asam Laktat

Biakan yang telah tumbuh pada 5 ml media MRS broth divortex untuk mendapatkan biakan yang homogen, kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan massa sel dan supernatannya. Selanjutnya supernatan dibuang dan massa sel yang diperoleh dicuci sebanyak dua kali dengan larutan salin (NaCl 0,85%) untuk menghilangkan sisa media. Pencucian dilakukan dengan menambahkan 1 ml salin pada massa sel dengan divortex hingga homogen, disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Pada tahap akhir, massa sel dilarutkan dengan 1 ml salin dan suspensi siap dipergunakan untuk tahap pengujian selanjutnya.

3. Inokulasi Suspensi Isolat BAL

Terlebih dahulu isolat bakteri asam laktat (butir no. 2 diatas) sebanyak 100 µl dikultur ke dalam API 50 CHL medium dan divortex. Selanjutnya suspensi isolat bakteri asam laktat tersebut diinokulasikan sebanyak 100 µl pada setiap tube dalam API 50CH dan diinkubasi secara anaerob pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam. Pembacaan hasil pengamatan

dilakukan pada 24 jam dan 48 jam inkubasi, untuk melihat terjadinya perubahan warna pada masing-masing tube dari API 50CH yang disebabkan perubahan warna dari indikator. Apabila terjadi perubahan warna dari merah keunguan menjadi kuning maka pengujian dikatakan positif (+) membentuk asam, kecuali untuk pengujian esculin (tube nomor 25), pengujian dikatakan positif (+) apabila terjadi perubahan warna dari merah keunguan menjadi hitam. Hasilnya merupakan profil biokimia yang digunakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri asam laktat dengan melihat Tabel pada produk kit API 50CH atau menggunakan software identifikasi APIWEB (Widiada, 2006).

Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari serangkaian pengujian dianalisis dan dipaparkan secara deskriptif dan data ditampilkan dalam bentuk tabel, gambar atau photo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat

Pada penelitian ini dilakukan penentuan total bakteri asam laktat (BAL) dari tiga sampel sawi asin yaitu Sawi Asin produksi MS Malang Jawa Timur (A), Sayur Asin Renyah produksi Niki Echo Surabaya Jawa Timur (B), dan Sayur Asin Sawi Mas produksi Wahana Boga Malang Jawa Timur (C). Nilai rata-rata total bakteri asam laktat dari tiga kali pengujian untuk sawi asin A, B, dan C dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rata-Rata Total Bakteri Asam Laktat (cfu/g)

Kode	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Rata-rata
A	$9,1 \times 10^6$	$9,6 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$	$9,1 \times 10^6$
B	$7,9 \times 10^6$	$7,6 \times 10^6$	$8,0 \times 10^6$	$7,8 \times 10^6$
C	$8,7 \times 10^6$	$8,5 \times 10^6$	$8,8 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$

Keterangan:

A : sawi asin produksi MS Malang Jawa Timur

B : sayur asin renyah produksi Niki Echo Surabaya Jawa Timur

C : sayur asin sawi mas produksi Wahana Boga Malang Jawa Timur

13

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata total bakteri asam laktat dari ketiga sampel sawi asin, hasil yang tertinggi didapat pada sawi asin A yaitu sebesar $9,1 \times 10^6$ cfu/g yang diikuti oleh sawi asin C yaitu $8,7 \times 10^6$ cfu/g, dan sawi asin B yaitu $7,8 \times 10^6$ cfu/g. Pertumbuhan koloni bakteri asam laktat pada media MRS agar dapat dilihat pada Gambar.1.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang tumbuh pada sawi asin dapat diisolasi setelah bakteri asam laktat ditumbuhkan pada media MRS agar yang diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37°C. Untuk karakterisasi bakteri asam laktat, harus dilakukan melalui koloni tunggal. Untuk pemisahannya dilakukan dengan menumbuhkan pada media MRS agar dengan metode gores (*streak for single colony*). Dari hasil penumbuhan didapatkan isolat yang murni. Pemisahan koloni bakteri asam laktat dengan metode gores dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri asam laktat dari sampel sawi asin A, B, dan C. Dari hasil isolasi diperoleh



Gambar 1. Pertumbuhan Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Media MRSA



Gambar 2. Pemisahan Koloni BAL dengan Metode Gores Untuk Mendapatkan Isolat Murni

21 isolat, yaitu 7 isolat dari Sawi Asin produksi MS Malang Jawa Timur (A), 7 isolat dari Sayur Asin Renyah produksi Niki Echo Surabaya Jawa Timur (B), dan 7 isolat dari Sayur Asin Sawi Mas produksi Wahana Boga Malang Jawa Timur (C).

Identifikasi⁴ dilakukan terhadap seluruh isolat yang meliputi morfologi, bentuk sel, susunan sel, pengecatan gram³ motilasi, katalase, dan uji produksi gas dapat dilihat pada Tabel 2, 3, dan 4.

Seluruh isolat yang diisolasi mempunyai bentuk morfologi yang sama yaitu berbentuk batang, bersusunan tunggal, gram positif, katalase negatif, non motil, dan menghasilkan gas pada uji produksi gas dari metabolisme glukosa (heterofermentatif).

Untuk identifikasi spesies dilakukan dengan perangkat kit API 50 CH dan API 50 CHL medium versi 5.1 (biomerieoux) yang dilanjutkan dengan software APIWEB dengan memperhatikan data hasil karakterisasi bakteri asam laktat secara fenotifik. Hasil identifikasi isolat BAL menggunakan kit API 50 CH dapat dilihat pada Gambar 3. Pada tiga sampel sawi asin, berhasil diidentifikasi satu spesies bakteri asam laktat *indigenous* yaitu *Lactobacillus fermentum I* dengan kategori identifikasi dapat diterima (85,5%) (*L. fermentum I* SAA1), *Lactobacillus fermentum I* dengan kategori identifikasi sangat baik (99,9%) (*L. fermentum I* SAA2), *Lactobacillus fermentum I* dengan kategori identifikasi baik (96,6%) (*L. fermentum I* SAA4), *Lactobacillus fermentum I* dengan kategori identifikasi baik (91,6%) (*L. fermentum I* SAB1), dan *Lactobacillus fermentum I* dengan kategori dapat diterima (87,5%) (*L. fermentum I* SAC1). Morfologi sel dari *Lactobacillus fermentum I* dapat dilihat pada Gambar 4.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Hasil identifikasi menggunakan perangkat

kit API 50 CH, menghasilkan satu spesies bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus fermentum I* dengan lima strain yang berbeda yaitu *L. fermentum I* SAA1 (3 isolat), *L. fermentum I* SAA2 (5 isolat), *L. fermentum I* SAA4 (2 isolat), *L. fermentum I* SAB1 (9 isolat), dan *L. fermentum I* SAC1 (2 isolat).

DAFTAR PUSTAKA

- 8 De Vuyst, L. and Leroy, F. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13: 194–199.
- 19 Fardiaz, S. 1992. *Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas-Institut Pertanian hal. 51-55.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. hal. 35-46.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Cetakan I. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada. hal. 13-89.
- 18 Steinkraus, K.H. 1996. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Second Edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 115-130.
- Wibowo dan D. Ristanto. 1988. *Petunjuk Susus Deteksi Mikroba*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. hal. 163-179.
- 22 Widiada, I.G.N. 2006. “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Susu Kuda Liar Bima Selama Penyimpanan dan Aktivitas Antibakterinya” (tesis). Denpasar: Universitas Udayana.
- 10

Tabel 2. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Sawi Asin A

Karakteristik 4	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
Bentuk Sel	Batang						
Susunan Sel	Tunggal						
Pengecatan Gram	+	+	+	+	+	+	+
Motilasi	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-	-
Produksi Gas	+	+	+	+	+	+	+
Tipe Fermentasi	Het						

Keterangan: + = tumbuh, - = tidak tumbuh, **Het** = heterofermentatif

Tabel 3. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Sawi Asin B

Karakteristik 4	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
Bentuk Sel	Batang						
Susunan Sel	Tunggal						
Pengecatan Gram	+	+	+	+	+	+	+
Motilasi	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-	-
Produksi Gas	+	+	+	+	+	+	+
Tipe Fermentasi	Het						

Keterangan: + = tumbuh, - = tidak tumbuh, **Het** = heterofermentatif

Tabel 4. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Sawi Asin C

Karakteristik 4	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
Bentuk Sel	Batang						
Susunan Sel	Tunggal						
Pengecatan Gram	+	+	+	+	+	+	+
Motilasi	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-	-
Produksi Gas	+	+	+	+	+	+	+
Tipe Fermentasi	Het						

Keterangan: + = tumbuh, - = tidak tumbuh, **Het** = heterofermentatif



Gambar 3. Hasil Identifikasi Isolat BAL Setelah 48 jam Pasca Inokulasi pada Perangkat Kit API 50 CH. Reaksi Positif Ditunjukkan dengan Warna Kuning



Gambar 4. Morfologi *L. fermentum 1* yang Diisolasi dari Sawi Asin (Pembesaran 1000x)

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Sawi Asin

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

- | | | |
|----------|---|------------|
| 1 | Submitted to Unika Soegijapranata
Student Paper | 2% |
| 2 | itp.pps.unud.ac.id
Internet Source | 2% |
| 3 | www.slideshare.net
Internet Source | 1 % |
| 4 | fp.unram.ac.id
Internet Source | 1 % |
| 5 | Submitted to iGroup
Student Paper | 1 % |
| 6 | Submitted to CSU, San Jose State University
Student Paper | 1 % |
| 7 | Ippm.unud.ac.id
Internet Source | 1 % |
| 8 | www.fao.org
Internet Source | 1 % |
| 9 | www.kopertis7.go.id
Internet Source | 1 % |

10	Huda, Nurul. "Indonesian Fermented Fish Products", Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology Second Edition, 2012. Publication	1 %
11	www.docstoc.com Internet Source	<1 %
12	aguskrisnoblog.wordpress.com Internet Source	<1 %
13	ojs.unud.ac.id Internet Source	<1 %
14	www.repository.ugm.ac.id Internet Source	<1 %
15	www.ftp.unud.ac.id Internet Source	<1 %
16	fr.slideshare.net Internet Source	<1 %
17	rv-reskisari.blogspot.com Internet Source	<1 %
18	plantpro.doae.go.th Internet Source	<1 %
19	eprints.uns.ac.id Internet Source	<1 %
20	202.124.205.111 Internet Source	<1 %

21	jurnal.usu.ac.id Internet Source	<1 %
22	175.45.184.28 Internet Source	<1 %
23	repository.unhas.ac.id Internet Source	<1 %
24	repository.ipb.ac.id Internet Source	<1 %
25	usupress.usu.ac.id Internet Source	<1 %
26	www.jmaterenvironsci.com Internet Source	<1 %

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE OFF
BIBLIOGRAPHY

EXCLUDE MATCHES OFF