

ISSN : 1410 - 08431

# JURNAL ILMIAH GEMA AGR

*TAHUN XI NO. 23 September 2008*



**Fakultas Pertanian  
Universitas Warmadewa  
Denpasar**

Respon Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Tomat Cherry ( <i>Lycopersium Esculentum Mill</i> ) Terhadap Konsentrasi dan Internal Pemberian Pupuk INNA G & F .....	1
Oleh : <i>Ni Komang Alit Astiari</i>	
Penanganan Pasca Panen Manggis .....	10
Oleh : <i>Made Dwi Wahyuni</i> ( <i>Jurusan Budidaya, Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa</i> )	
Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Fermentasi Ikan Peda .....	17
Oleh : <i>Ni Made Ayu Suardani Singapurwa</i>	
Tanggap Tanaman Jarak Pagar ( <i>Jatropha curcas L.</i> ) Pada Perlakuan Naungan dan Pupuk Nutrisi Saputra .....	26
Oleh : <i>Ir. I Nengah Suaria, M.Si.</i> <i>Ir. Yohanes Parlindungan Situmeang, M.Si.</i>	
Pengaruh Umur Pemangkas dan Volume Pemangkas Pada Ketela Rambut Var. Canguang dan Lokal Terhadap Hasil Umbi dan Brangkasan .....	35
Oleh : <i>Ir. Ni Made Yudiastari, M.Si</i>	
Pengaruh Penggantian Sebagian Ransum dengan Umbi dan Daun Ketela Rambut Terhadap Pertumbuhan Babi Umur 2 6 Bulan .....	54
Oleh : <i>Ir. Luh Suariani, M.Si</i>	
Pengaruh Rasio Karbon (C) dan Nitrogen (N) Terhadap Laju Penguraian Sampah Organik Menjadi Kompos .....	72
Oleh : <i>Israil Sitepu</i>	

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA FERMENTASI IKAN PEDA

Oleh :

Ni Made Ayu Suardani Singapurwa

Jurusan Teknologi Pertanian

---

## ABSTRACT

*Lactid acid bacteria are used to preserve variety of food because it can be produce antimicrobial substances such as organic acids, hydrogen peroxide, carbon dioxide, diacetyl, and bacteriocins which can be inhibit against several food spoilage microbia and food patogens. Peda fish fermented research aim to known which is lactic acid bacteria genus have a role.*

*The isolation and identification of lactic acid bacteria is doing until the genus level. Lactid acid bacteria produce are doing by growth isolates in MRSA medium. Lactobacillus and leuconostoc are lactic acid bacteria which have a role in peda*

**Keyword : Lactic Acid Bacteria, Peda Fish, MRSA medium**

## I. PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Bakteri asam laktat mempunyai peranan penting dalam proses fermentasi makanan, seperti pada fermentasi terasi dan ikan peda. Selama proses fermentasi, bakteri ini memetabolisme karbohidrat sebagai produk utamanya, menghasilkan asam laktat (Mahyudani, 2003). Bakteri asam laktat mempunyai pengaruh pengawetan karena menghasilkan senyawa-senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan berbagai mikroba. Sebagian besar pengaruh antimikroba ini disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam asetat serta penurunan pH yang dihasilkan (Kusumawati, 2000) yang dapat menghambat perkembangan bakteri yang hidup pada pH netral maupun alkali. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari berbagai sumber alam dan produk bahan makanan hasil fermentasi, dengan lingkungan yang berbeda diperkirakan akan diperoleh isolat bakteri asam laktat yang bervariasi pula (Mahyudani, 2003).



Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada produk makanan tradisional hasil fermentasi telah banyak dilakukan. Seperti penelitian Ohhira (1999) yang telah mengisolasi dan mengidentifikasi produk makanan hasil fermentasi yang ada di Asia Tenggara, pada produk minuman beralkohol, tape, tempe, belachan, badu, chinchaluk, pekasam, terasi, kecap, tauco, dan tempoyak. Dari 16 produk pangan terfermentasi diperoleh 4 genus bakteri asam laktat, 15 spesies dan 189 strain bakteri asam laktat. Spesies yang dominan adalah *Leuconostoc mesenteroides* dan *Lactobacillus plantarum*. Sedangkan Mahyudani (2003) telah melakukan isolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat pada produk penggaraman ikan dan fermentasi ikan menghasilkan 60 isolat. Isolat-isolat tersebut yaitu 12 isolat dari ikan asin, 16 isolat dari ikan pindang, 15 isolat dari terasi, 9 isolat dari pakasam, dan 8 isolat dari wadi. Isolat-isolat tersebut dikelompokkan ke dalam genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus*. Hasil uji lebih lanjut ke tingkat spesies menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh adalah *Lactobacillus acidophylus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Pediococcus acidilactici*, *P. Pentosaues*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Enterococcus faecium*. Identifikasi isolat tersebut meliputi pengecatan gram, morfologi sel, uji biokimia, uji fisiologis, tipe fermentasi, dan tipe peptidoglikan.

Kemampuan bakteri asam laktat pada bahan pangan terfermentasi terutama pada ikan terfermentasi yang potensial sebagai pengawet makanan belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada fermentasi ikan peda.

## II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pascasarjana Bioteknologi, Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian dan Laboratorium Analitik Universitas Udayana.

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari ikan kembung yang dibeli di pasar Badung Denpasar, garam, aquades, media pertumbuhan MRSA, serta bahan-bahan kimia untuk isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat. Alat-alat yang digunakan berupa alat-alat untuk membuat ikan peda seperti toples plastik berdiameter 30 cm, tinggi 35 cm, besek bambu.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengumpulkan data

dengan pengamatan langsung dan melakukan serangkaian uji-uji yang diperlukan. Penelitian dilakukan secara bertahap, yaitu tahap pembuatan ikan peda, dan tahap analisis isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada fermentasi ikan peda.

### **Pembuatan Ikan Peda**

Pembuatan ikan Peda dilakukan melalui dua tahap, yaitu proses penggaraman dan proses fermentasi. Pada proses penggaraman, sebanyak 12 ekor (2 kg) ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) dibuang insang dan isi perutnya, digarami sebanyak 20% berat ikan, garam diletakkan berselang-seling dalam toples plastik dan bagian atas ditutup dengan garam, wadah ditutup rapat. Setelah proses penggaraman yang berlangsung selama tiga hari, ikan dicuci dengan air garam yang terdapat pada proses penggaraman dan ditiriskan. Ikan yang telah bersih dilapisi garam dapur, disusun dalam wadah besek dengan dialasi jerami, pada bagian atas ditutup garam dan wadah ditutup rapat. Selama fermentasi yang berlangsung selama 9 hari, ikan dalam wadah bambu disimpan pada tempat yang bersih (Rahayu, 1993 ; Afrianto dan Liviawaty, 1993 ; Murniyati dan Sunarman, 2000).

### **Total bakteri asam laktat**

Total bakteri asam laktat ditentukan dengan metode permukaan (Fardiaz, 1992). Sebanyak 10 g sampel dihancurkan dalam wadah steril dan dimasukkan ke dalam botol pengencer yang telah berisi 90 ml larutan Bacteriological Pepton 0.1% steril, sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . kemudian dikocok hingga homogen, selanjutnya dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml Bacteriological Pepton 0,1% steril, sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ . Demikian seterusnya untuk mendapatkan pengenceran yang lebih besar, sampai pengenceran  $10^{-8}$ . Dari pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ , dipipet 1 ml ke dalam cawan Petri, kemudian dituang media MRSA sebanyak 15-20 ml. Komposisi MRSA terdiri dari 10 g/l peptone, 10 g/l ekstrak daging, 5 g/l ekstrak yeast, 2 g/l  $K_2HPO_4$ , 2 g/l amonium sitrat, 20 g/l glukosa, 5 g/l sodium asetat, 0,58 g/l  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  dan 0,28 g/l  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ . Cawan Petri yang sudah ditanami selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator dengan cara terbalik dan diinkubasi pada suhu  $30^\circ C$  selama 24 jam. Koloni-koloni yang tumbuh pada agar cawan Petri dihitung dengan metode angka lempeng total.

## Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Isolat bakteri asam laktat diidentifikasi berdasarkan penotipe. Identifikasi berdasarkan penotipe meliputi : morfologi sel, pengecatan gram, uji katalase, produksi gas dari glukosa, dan uji motilasi. Data yang diperoleh untuk penotipe dibandingkan dengan deskripsi standar menurut Bergeys Manual of Systematic Bacteriology (Sneath *et al.*, 1986).

### Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram diawali dengan membuat preparat ulas yaitu dengan cara : kaca objek dibersihkan dengan sepotong kapas yang dibasahi alkohol, berikan setetes aquades di atas gelas objek dan ulaskan satu mata ose koloni bakteri dari media gores dan dibiarkan beberapa saat. Preparat selanjutnya difiksasi di atas api untuk membunuh dan melekatkan bakteri pada kaca objek. Ditetesi larutan gram A yang berwarna ungu (2 g kristal violet, 20 ml alkohol, 80 ml amonium oksalat 1%) selama 2 - 3 menit. Dengan tanpa dicuci, preparat diberi larutan gram B yang berwarna coklat (1 g yodium, 2 g kalium yodida, 30 ml aquades) selama 0,5 - 1 menit. Preparat dicuci dengan air kemudian ditetesi larutan gram C yang tidak berwarna (30 ml acetone, 70 ml alkohol) sampai warna cat dilunturkan, preparat dicuci kembali dengan air dan diberi larutan gram D yang berwarna merah (1 g safranin, 10 ml alkohol, 90 ml aquades) selama 1 - 2 menit, kemudian dicuci dan dikeringkan.

Bakteri gram positif akan tetap berwarna ungu karena masih mengikat cat gram A sedangkan cat gram D tidak dapat diikat, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah dengan dasar merah muda karena cat Gram A dilunturkan oleh cat Gram C dan mengikat cat gram D. Dengan mikroskop (pembesaran 1000 kali) dapat diamati bentuk morfologi bakteri (Fardiaz, 1992).

### Uji Katalase

Sebanyak 1 ml isolat disuspensi dalam 2 ml garam fisiologi, ditambahkan 1 ml larutan  $H_2O_2$  3% selanjutnya aktivitas enzim katalase dapat diindikasikan dengan pelepasan oksigen seperti gas (gelembung udara) dan itu menandakan uji positif (Fardiaz, 1992).



### Produksi gas dari glukosa

Pembentukan gas dari glukosa diuji dengan cara menginokulasi isolat umur 24 jam ke dalam MRS broth (broth mengandung 2% glukosa). Produksi gas diobservasi dalam tube Durham yang ditelungkupkan, tes media setelah inkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Jika tidak terbentuk gas, ditunjukkan dengan hasil negatif, bakteri yang berperan bersifat homofermentatif, sedangkan jika terbentuk gas ditunjukkan dengan hasil positif, bakteri yang berperan bersifat heterofermentatif (Fardiaz, 1992).

### Uji Motilasi

Biakan diinokulasi pada media semi padat (pepton yang ditambahkan 20% agar) dengan cara menusukkannya sampai kedalaman  $\frac{3}{4}$  dari permukaan media, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan berupa letak pertumbuhan bakteri pada media (bakteri yang hanya tumbuh di sekitar tusukan bersifat anaerob dan anaerob fakultatif, menunjukkan hasil uji yang negatif, sedangkan bakteri yang tumbuh pada permukaan media bersifat aerob, menunjukkan hasil uji yang positif) (Fardiaz, 1992).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari 2 kali ulangan dianalisis secara deskripsi dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat.

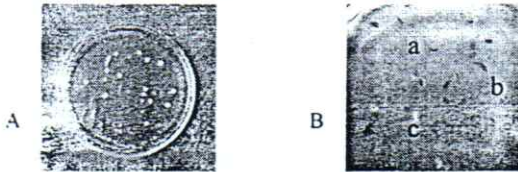
Pada penelitian ini diperoleh tiga isolat bakteri asam laktat. selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri asam laktat, seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Fermentasi Ikan Peda

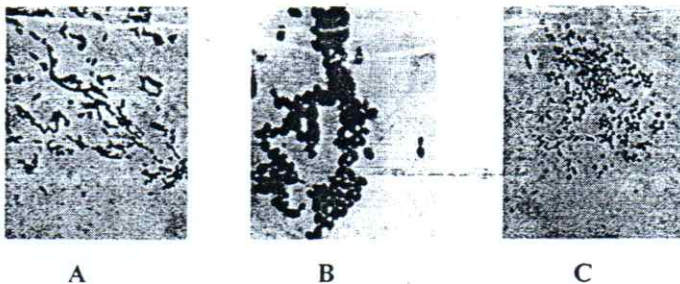
Identifikasi	A (atas)	B (tengah)	C (bawah)
Uji pewarnaan Gram	Positif	positif	positif
Uji morfologi	Batang	batang	bulat
Uji motilasi	Negatif	negatif	negatif
Uji katalase	Negatif	negatif	negatif
Uji produksi gas dari glukosa	Positif	negatif	positif
Tipe fermentasi	Heterofermentatif	Homofermentatif	Heterofermentatif
Genus	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Leuconostoc</i>

Pada Tabel 1 dapat dilihat dari 3 isolat bakteri asam laktat pada fermentasi ikan peda, menurut Sneath *et al.*, (1989), 2 isolat diidentifikasi sebagai genus *Lactobacillus* dan 1 isolat sebagai genus *Leuconostoc*. Hasil penelitian ini mendukung pendapat Buckle *et al.* (1987), yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* dapat tumbuh cepat dengan adanya garam dan terbentuknya asam akan menghambat organisme yang tidak dikehendaki. Karena pada fermentasi ikan peda diawali dengan proses penggaraman, maka bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* yang dapat berkembang.

Bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi 2, yaitu yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. (Buckle *et al.*, 1987 ; Jay, 1992 ; Schlegel and Schmidt, 1994). Genus *Lactobacillus* dapat bersifat homofermentatif atau heterofermentatif, sedangkan *Leuconostoc* bersifat heterofermentatif. Pada penelitian ini, genus *Streptococcus* dan *Pediococcus* tidak terdapat selama fermentasi. Hal ini disebabkan karena pada fermentasi ikan peda menggunakan konsentrasi garam yang cukup tinggi, sehingga hanya genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* yang mampu berkembang pada kadar garam yang tinggi (Buckle *et al.*, 1987).



Gambar 1. Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) A. Koloni BAL dilihat dari bagian atas Petri. B. Koloni BAL dilihat dari bagian bawah Petri, a. koloni yang tumbuh pada bagian atas media, b. koloni yang tumbuh pada bagian tengah media, c. koloni yang tumbuh pada bagian bawah media



Gambar 2. Morfologi Bakteri Asam Laktat. A. *Lactobacillus* heterofermentatif. B. *Lactobacillus* homofermentatif. C. *Leuconostoc*



Total bakteri asam laktat pada hari ke 0 sebanyak  $23,9 \cdot 10^5$  cfu/gr, hari ke 3 sebanyak  $76,5 \cdot 10^5$  cfu gr. hari ke 6 sebanyak  $74,5 \cdot 10^6$  cfu/gr, dan hari ke 9 sebanyak  $81,3 \cdot 10^7$  cfu/gr. Peningkatan total bakteri asam laktat selama fermentasi mendukung pernyataan Schlegel and Schmidt (1994) yang menyatakan bahwa peningkatan total bakteri asam laktat selama fermentasi terjadi karena adanya karbohidrat yang dapat difermentasikan oleh bakteri asam laktat, sehingga bakteri asam laktat masih dapat tumbuh dan mengalami peningkatan. Buckle *et al.*, (1987) juga menyatakan bahwa proses fermentasi dapat meningkatkan jumlah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat tahan terhadap kondisi asam, sehingga dapat berkembang biak pada kondisi lingkungan yang cocok, dengan melakukan pengkayaan bakteri dan mengisolasi bakteri asam laktat pada media biak selektif. Zakaria (1998) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen pada produk ikan peda dapat dikendalikan dengan perlakuan aplikasi bakteri asam laktat dan garam.

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### Kesimpulan

1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi ikan peda adalah genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*.

##### Saran

- ✍ Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui spesies bakteri asam laktat yang berperan pada fermentasi ikan peda.
- ✍ Penggunaan kultur starter bakteri asam laktat pada fermentasi ikan peda diharapkan dapat mempercepat produksi asam laktat secara konsisten, sehingga mempersingkat waktu fermentasi, meningkatkan keamanan, kualitas dan stabilitas ikan peda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E., dan E. Liviawaty. 1993. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisius. Yogyakarta.
- Anonimus. 2003. Industrial food biotechnology. [Http://imol.vub.ac.be./IMDO/Page51.html](http://imol.vub.ac.be./IMDO/Page51.html)
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah Purnomo dan Adiono. UI Press. Jakarta.
- Ilminingtyas W.H., D., S. Hadiwiyoto, D. Wisesa, dan S. Naruki. 2000. Pembentukan Fraksi-fraksi Protein Selama Fermentasi Peda. Agrosains 13(1): 1-18. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Jay, J.M. 1992. Lactic Acid Bacteria. Modern Food Microbiology. Van Nostran Reinhold New York.
- Kusumawati, N. 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat dalam Menghambat *Listeria monocytogenes* Pada Bahan Pangan. Jurnal Tek. Pangan dan Gizi.1(1): 14-26.
- Lactospore. 2003. Background Information on Lactic Acid Bacteria. <http://www.lactospore.com/back.html>
- Magnusson, J. 2003. antifungal Activity of Lactid Acid Bacteria. Dept. of Microbiology, SLU. <http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000247/>
- Mahyudani, 2003. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Penggaraman Ikan dan Ikan Terfermentasi. [http://www.geocities.com/himatepa\\_uisu/agritech3.html](http://www.geocities.com/himatepa_uisu/agritech3.html)
- Murniyati, A.S. dan Sunarman. 2000. Pendinginan, Pembekuan, dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta
- Ohhira, I. 1999. Properties of Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods. BuyPorbiotics.co.

- Rahayu, S. 1993. Pengolahan Ikan Peda *dalam* Kumpulan Hasil-hasil Penelitian Pasca Panen Perikanan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- Schlegel, H.G., dan K. Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Penerjemah Baskoro, R.M.T. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Signorini, M.L., E.P. Alquicira and G. Legarreta. 2002. Effect of lactic acid and lactic acid bacteria on the growth of three spoilage microorganisms in vacuum packaged beef. *Depde Biotecnologia, Univ. Autonoma Metropolitana, Iztapalapa, Mexico.*
- Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe dan J.G. Holt. 1986. *Bergeys manual of systematic bacteriology. Vol2. Baltimore : Williams and Wilkins.*
- Sudarmadji, S., B. Haryono, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.*
- Zakaria. 1998. Aplikasi Bakteri Asam Laktat pada Produksi Peda Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*) Rendah Garam. *Fateta. IPB. Bogor.*