

## Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangke Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan

SUHAENI<sup>1</sup>, AKHMAD SYAKUR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program studi Biologi, Fakultas Sains, Universitas Cokroaminoto Palopo

Kampus II Jl. Latamacelling Kota Palopo, Sulawesi Selatan 91911

email: [enhiebio@yahoo.co.id](mailto:enhiebio@yahoo.co.id)

### ABSTRACT

The research conducted in Enrekang, South Sulawesi aims to obtain the isolates of lactic acid bacteria from dangke and identify the lactic acid bacteria that have potential as a probiotic. Identification included physical and microbiological test. The physical tests include pH and total titrated acid test, while Microbiological testing include morphological observation of bacterial colonies, gram staining and catalase test. The results showed 2 isolates with characteristics of lactic acid bacteria, positive gram, rounded and shaped. Catalase test on all isolates showed a negative result, no gas bubbles when reacted with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Thus it was concluded that all isolates shows the characteristics of lactic acid bacteria.

Keywords: dangke, lactic acid bacteria, probiotic

### INTISARI

Penelitian yang dilakukan di Enrekang, Sulawesi selatan bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat dari dangke dan mengetahui identifikasi dari bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik. Identifikasi meliputi pengujian fisik dan pengujian mikrobiologi. Pengujian fisik meliputi pengujian nilai pH dan total asam tertitrasi. Pengujian mikrobiologi meliputi pengamatan morfologi koloni bakteri, pewarnaan gram dan uji katalase. Dari sampel dangke diperoleh 2 isolat yang menunjukkan karakteristik bakteri asam laktat, gram positif berbentuk bulat dan batang. Pada uji katalase semua isolat menunjukkan hasil katalase negatif yaitu tidak terdapat gelembung gas pada saat direaksikan dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semua isolat menunjukkan karakteristik bakteri asam laktat.

Kata kunci: bakteri asam laktat, dangke, probiotik

### PENDAHULUAN

Pemerintah Kabupaten Enrekang menjadikan dangke sebagai produk pangan lokal unggulan dan merupakan makanan tradisional yang sangat digemari, terbuat dari susu segar berbentuk kubah karena menggunakan tempurung kelapa sebagai cetaknya dan dibungkus dengan daun pisang. Produk ini dikenal sebagai “keju Enrekang” yang memiliki nilai gizi yang tinggi (Rahman, 2014).

Beberapa penelitian sebelumnya dangke mengandung beberapa Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL adalah salah satu bakteri gram positif yang mampu menghasilkan bahan pengawet alami berupa bakteriosin. Penggunaan BAL dan produk metabolisme

mereka umumnya dianggap aman atau *generally recognized as safe* (GRAS). Penerapan senyawa antimikroba yang dihasilkan sebagai agen antimikroba terhadap bakteri patogen yang menyebabkan terjadinya pembusukan pada makanan telah terbukti manfaatnya (Adawiyah dkk, 2015; Zacharof dan Lovitt, 2012).

Beberapa strain BAL diketahui dapat memproduksi peptida antimikroba dalam bentuk protein berukuran kecil yang disebut bakteriosin. Bakteriosin disintesis oleh ribosom dengan sifat antagonis terhadap beberapa bakteri gram positif maupun negatif. Penerapan bakteriosin dalam preservasi pangan memberikan beberapa manfaat diantaranya yaitu menurunkan resiko toksik

dan kontaminasi silang terhadap pangan, meningkatkan umur simpan produk pangan, menekan kerugian ekonomi akibat kemunduran mutu pangan, serta dapat mengurangi tingkat penggunaan bahan kimia sintetik pada pangan (Calo-Mata *et al.* 2008; Cotter *et al.* 2005). Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi dan identifikasi pada bakteri asam laktat asal dangke yang merupakan makanan tradisional Kabupaten Enrekang. Bakteri asam laktat yang diperoleh dari dangke bisa dijadikan sebagai probiotik. Sehingga penelitian diharapkan mendapatkan isolat bakteri asam laktat yang dapat dijadikan sebagai kandidat untuk menghasilkan sebuah bahan pengawet alami dan probiotik.

## METODE

**Tahap Persiapan.** Sampel berupa dangke yang diperoleh dari Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan, terbuat dari susu sapi yang digumpalkan dengan menggunakan enzim papain (getah pepaya).

**Penentuan Nilai pH** (AOAC, 2005). Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dihomogenkan dengan akuades 5 mL. Sampel diukur menggunakan pH meter yang sebelumnya sudah dikalibrasi terlebih dahulu. Pengukuran nilai pH dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

**Total Asam Tertitrasi.** Sampel ditimbang sebanyak 10 gram dihomogenkan dengan aquades 40 mL. Sampel ditambahkan dengan fenolphthalin sebanyak 2-3 tetes dan dititrasi dengan NaOH (0,1 N). Pengukuran total asam titrasi dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

$$\text{Total asam tertitrasi (\%)} = \frac{\text{Vol NaOH terpakai} \times \text{N NaOH}}{\text{Berat sampel (gr)} \times 100} \times 100$$

**Isolasi Bakteri Asam Laktat** (Sujaya *et al.*, 2008; Ogunbanwo *et al.*, 2003; Mustopa, 2013). Sampel dangke sebanyak 1 ose digoreskan di MRS Agar. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolasi dilakukan hingga mendapatkan koloni tunggal. Selanjutnya mengambil koloni tunggal pada kultur, kemudian diinokulasikan

secara goresan pada medium MRSA dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 2 x 24 jam. Koloni dari kultur murni selanjutnya diamati morfologinya. Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk koloni (*whole colony*), bentuk tepi (*edge*), warna (*colour*) dan bentuk permukaan (*elevation*). Koloni yang sudah diamati morfologinya kemudian diinokulasikan pada medium MRSA miring untuk stok bakteri murni dan sebagai persiapan uji penelitian lebih lanjut (identifikasi mikroba).

**Identifikasi Bakteri Asam Laktat** (Hadioetomo, 1990). 1) Uji Katalase. Sebanyak 1 ose koloni tunggal yang diperoleh dari hasil isolasi dioleskan pada gelas objek yang telah disterilkan dengan alkohol, kemudian ditetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Preparat diamati, apabila terdapat gelembung gas menunjukkan bakteri tersebut katalase positif dan apabila tidak terbentuk gelembung gas bakteri tersebut katalase negatif. Semua perlakuan dilakukan tiga kali ulangan. 2) Pewarnaan Gram. Sampel bakteri dioleskan pada gelas objek kemudian difiksasi dengan pemanasan. Olesan bakteri ditetesi dengan pewarna gram A (tunggu selama 30 detik) kemudian dibilas dengan akuades. Selanjutnya olesan bakteri ditetesi dengan pewarna gram B dan dikeringkan selama 30 detik. Preparat dicuci dengan alkohol 95% sampai warna tidak luntur lagi. Kemudian dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi dengan pewarna gram D selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades selanjutnya dikeringkan. Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop. 3) Uji Ketahanan Suhu. Isolat bakteri diambil dari stok sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan pada medium MRSB. Selanjutnya medium yang telah berisi isolat diinkubasi pada temperatur 5°C dan 36°C selama 2 x 24 jam. Kemudian diamati terjadinya pertumbuhan bakteri pada medium. Hasil positif jika terjadi pertumbuhan bakteri pada kisaran temperatur tersebut. 4) Uji Ketahanan Terhadap Keasaman (pH). Isolat bakteri diambil dari stok sebanyak 1 ose (ose bulat). Kemudian diinokulasikan pada medium MRSB-HCl pada pH 3, 4 dan 5 kemudian diinkubasi

selama 2-3 x 24 jam dengan temperatur 37°C. Hasil positif ditandai dengan terjadinya pertumbuhan bakteri pada medium yang

memiliki keasaman rendah. Hasil negatif jika tidak terjadi pertumbuhan mikroba pada medium.

## HASIL

Tabel 1. Pengujian Fisik Sampel Dangke (pH dan Total asam Tertitrasi)

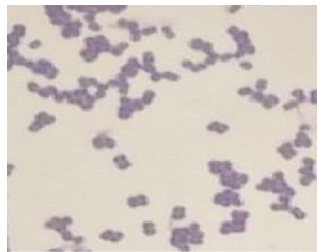
Ulangan	Pengujian Fisik			
	pH	Total Asam Tertitrasi		
		pH Awal	pH Akhir	Vol. NaOH
1	4,9	5,8	7,6	4,6
2	5,0	5,6	7,4	3,4
3	4,8	5,7	7,2	2,9
<b>Total Rata-Rata</b>	4,9			

Tabel 2. Karakterisasi morfologi koloni isolat dari Dangke

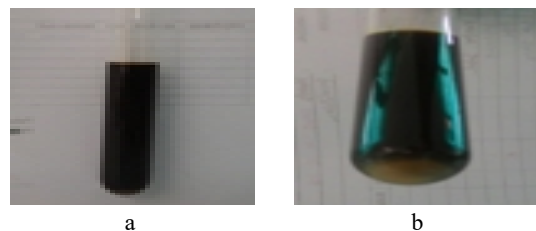
Nama Isolat	Bentuk Koloni	Tepian	Warna	Ketinggian Permukaan
A	Circular	Entire	Krem Susu	Conveks
B	Circular	Entire	Krem susu	Conveks

Keterangan:

1. Circular: Bulat; 2. Entire: Rata; 3. Conveks: Cembung



Gambar 1. Isolat bakteri gram positif berbentuk bulat (*coccus*)



Gambar 2. Pertumbuhan isolat pada medium MRSB (a. Sebelum inkubasi, b. Setelah inkubasi)

Tabel 3. Karakteristik isolat berdasarkan pengujian katalase, pengecatan mikroba dan pertumbuhan isolat pada kondisi pH dan suhu yang berbeda

Nama isolat	Karakteristik							
	Uji Katalase	Pengecatan gram		Ketahanan asam (pH)			Ketahanan suhu (°C)	
		Bentuk	Gram	3	4	5	5	36
A	Negatif	Coccus	Positif	++	++	++	+	++

Keterangan: 1. Coccus: Bulat; 2. ++: tidak keruh dan banyak endapan; 3. +: tidak keruh dan sedikit endapan

## PEMBAHASAN

Dangke merupakan salah satu makanan tradisional khas asal Kabupaten Enrekang

Propinsi Sulawesi Selatan dengan bahan dasar susu sapi dan diolah secara enzimatik menggunakan enzim papain dari getah pepaya

yang memiliki potensi sebagai substrat pertumbuhan yang baik bagi bakteri asam laktat. Sebelum pengujian mikrobiologi dilakukan uji fisik terhadap kondisi sampel. Tabel 1 menunjukkan kondisi fisik sampel Dangke.

Hasil isolasi dan inkubasi selama 48 jam didapatkan 2 isolat bakteri yang diduga merupakan bakteri asam laktat. Berdasarkan pengamatan, ke-2 isolat bakteri tersebut mempunyai bentuk koloni bulat (*circular*), tepian rata (*entire*) berwarna krem susu mengkilat dengan permukaan berbentuk cembung (*convex*). Tabel 2 menunjukkan karakteristik morfologi isolat dari Dangke.

Pada pengamatan makroskopis, diperoleh kultur murni dengan 1 isolat. kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis terhadap isolat yang menunjukkan karakteristik probiotik. Hasil pengamatan mikroskopik setelah pengecatan gram dan pengamatan dibawah mikroskop, menunjukkan bahwa semua isolat merupakan bakteri gram positif yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu dan berbentuk bulat (*coccus*). Suroso 2004 dalam Heni (2012) menjelaskan bahwa karakteristik bakteri asam laktat yang berbentuk bulat (*cocci*) tergolong *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* dan *Pediococcus*.

Berdasarkan hasil uji katalase, isolat yang diperoleh dari sampel dangke memiliki karakteristik non katalase atau memberikan hasil negatif pada pengujian katalase. Bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida. Mikroba yang berpotensi sebagai probiotik harus mampu bertahan pada kondisi ekstrim. Pengujian karakteristik isolat probiotik terhadap pH dan suhu menggunakan medium MRSB. Pertumbuhan ditandai dengan terbentuknya endapan pada medium setelah inkubasi 2 x 24 jam yang ditunjukkan pada Gambar 2.

Uji ketahanan terhadap keasaman menggunakan tiga variasi pH yang berbeda yaitu pH 3, 4 dan pH. Menurut Itoh 1992 dalam Heni (2012) standar yang digunakan untuk isolat bakteri asam laktat yang dapat

digunakan sebagai agensia probiotik adalah isolat tersebut harus mampu bertahan pada pH 3 selama 2 jam. Tabel 2 menunjukkan ketahanan isolat yang berbeda-beda terhadap kondisi keasaman medium.

Uji ketahanan suhu terhadap isolat probiotik menunjukkan laju pertumbuhan yang berbeda pada tiap variasi suhu. Variasi suhu yang digunakan adalah suhu 5°C dan 36°C sebagaimana yang terlihat pada tabel 3. Berdasarkan pengamatan isolat bakteri menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik pada suhu 36°C dibanding suhu 5°C. Suroso (2014) menjelaskan bahwa suhu optimum pertumbuhan bakteri asam laktat beragam pada setiap strain. Berdasarkan hal ini bakteri digolongkan menjadi termofilik, mesofilik dan psikotrofik.

Kriteria yang juga penting yang digunakan untuk memilih isolat BAL digunakan sebagai agensia probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik yang menjadi penghuni saluran pencernaan. Suroso 2004 dalam Heni (2012) menjelaskan bahwa beberapa jenis bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri.

## KESIMPULAN

Diperoleh 1 isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. Isolat menunjukkan bakteri gram positif dan pada pengujian katalase menunjukkan katalase negatif. Isolat berbentuk bulat (*coccus*) diduga dari golongan *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Enterococcus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah SR, Hafsa H, Fatmawati N, Muhammad HM. 2015. *Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Dangke terhadap Garam Empedu sebagai Kandidat Probiotik. Prosiding Seminar Biologi*. Jurusan Biologi, UIN Alauddin Makassar. hal: 164-173
- AOAC, Association of official Analytical Chemist. 2005. *Official Methods of*

- Analysis of AOAC International. 18<sup>th</sup> ed. Maryland, AOAC
- Calo-Mata P, Arlindo S, Boehme K, Miguel T, Pascoal A, Barros-Velazquez J. 2008. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food product. *Food Bioprocess Tech* 1: 43-63.
- Cotter PD, Hill C, Ross RP. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol* 3: 777-788.
- Hadioetomo RS. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Jakarta: PT Gramedia.
- Heni M. 2012. Isolasi dan Katakterisasi bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan ayam Kampung *Gallus domesticus*. [Skripsi]. Makassar: Fakultas MIPA, UNHAS
- Mustopa AZ. 2013. Isolation and characterization of *Lactobacillus plantarum* S34 from Indonesian Traditional Food. [Dissertation]. Yongin: Departemen of Bio-Resources Science, the Graduate School, Dankook University.
- Ogunbanwo ST, Sanni AI, Onilude AA. 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* f1and *Lactobacillus brevis* OGI. *African J Biotechnol* 2 (8): 219-227.
- Rahman S. 2014. Studi Pengembangan Dangke sebagai Pangan Lokal Unggulan dari Susu Di Kabupaten Enrekang. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 3 (2): 1.
- Sujaya N, Ramona Y, Widarini NP, Suariani NP, Dwipayanti NMU. 2008. Isolasi dan Karakterisasi bakteri asam laktat dari susu kuda sumbawa. *J.Vet.* 9 (2): 52-59.
- Zacharof MP, Lovitt RW. 2012. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *APCBEE Procedia* 2: 50-56.