

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA FERMENTASI PETIS DAGING TRADISIONAL

## [*Isolation And Identification Of Lactic Acid Bacteria In The Traditional Meat Fermentation – Petis-*]

Yoyok B. Pramono<sup>1</sup>, Endang S. Rahayu<sup>2</sup>, Suparmo<sup>2</sup> dan Tyas Utami<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro  
Kampus drh. Soejono Koesoemowardojo Tembalang-Semarang 50275

<sup>2</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada  
Jl. Flora, Kompleks Bulaksumur, Yogyakarta

*Received November 02, 2008; Accepted November 30, 2008*

### ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan salah satu mikrobiota alami daging yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia fermentasi untuk menjaga kualitas, meningkatkan higienitas dan sifat sensoris produk. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat pada fermentasi petis daging tradisional untuk perbaikan proses selanjutnya.

Penelitian ini merupakan eksplorasi awal *exploration experimental method* dengan 4 ulangan dan 2 satuan percobaan. Identifikasi bakteri asam laktat berdasarkan karakterisasi morfologis, biokimiawi, dan fisiologis. Karakter morfologis yang dipelajari meliputi bentuk, ukuran, dan susunan sel serta pewarnaan Gram. Karakter biokimiawi meliputi uji katalase dan pembentukan asam dengan glukosa sebagai sumber karbon, dan fisiologis dikaji dengan pengujian pertumbuhan pada berbagai suhu, kadar NaCl, dan pH.

Hasil penelitian memperoleh 11 isolat yang selnya berbentuk bulat (kokus) tetrad (empat) tetapi ada yang dua-dua, ada zona jernih disekeliling koloni pada MRS yang diberi CaCO<sub>3</sub> 1%, dan reaksi pewarnaan Gram positif. Karakteristik tersebut merupakan penciri awal bakteri asam laktat. Isolat-isolat ini juga tumbuh pada suhu kamar dan kadar garam 20% diduga kuat adalah genera *Pediococcus*.

*Kata Kunci : Fermentasi Daging, Bakteri Asam Laktat*

### ABSTRACT

Lactic acid bacteria is one of natural meat microbe which is often used as fermentation agent. It is needed to maintain the quality, improvement of hygienic, and sensory characteristic of product. This research isolated and identified lactic acid bacteria in the meat traditional fermentation -petis-. The isolates could be used to improve the some fermentation process.

This research was the *exploration experimental method* by 4 repetition with 2 sub research. The identification of lactic acid bacteria was based on morphological, biochemical, and physiological of the characters. The morphological characteristic were shape, measure and formation of cell. The biochemical characteristic included catalase test and acid formation with glucose as carbon source, and the physiological characteristics were studied by growth at various temperature, NaCl, and pH.

The result of research was obtained 11 isolates of lactic acid bacteria, namely tetrad bacillus cell, clear zone colony at 1% CaCO<sub>3</sub> in MRS, and Gram positive, which were early characteristic of lactic acid bacteria. The isolates were growth at room temperature and 20% of NaCl, which were apparently as genus of *Pediococcus*.

*Keywords: Meat Fermentation, Lactic Acid Bacteria*

## PENDAHULUAN

Di Indonesia ada fermentasi daging yang disebut dengan petis daging fermentasi (Pramono *et al.*, 2007). Produk ini berbentuk pasta berasa manis, asin, atau manis - asin (sesuai selera) dengan penambahan garam, gula serta bumbu-bumbu ataupun rempah-rempah. Produk petis daging fermentasi biasanya dimanfaatkan sebagai bumbu atau penyedap rasa, sebagai pelengkap makanan atau bahan baku sambal, dan juga sebagai lauk-pauk. Pada fermentasi petis daging terjadi gabungan antara pengendalian *Aw* (*water activity*), pH dan penggaraman sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikrobia patogen dan pembusuk yang tidak diinginkan.

Populasi mikrobia dalam fermentasi sangat bervariasi tergantung jumlah dan jenis mikrobia awal yang ada dalam bahan dasar (daging). Bakteri asam laktat merupakan mikrobiota alami daging yang dimanfaatkan sebagai agensia fermentasi (Lucke, 2000). Beberapa bakteri asam laktat tersebut diantaranya *Pediococcus*, *Lactobacillus*, dan *Leuconostoc* (Sorensen *et al.*, 2002; Ray, 1996). Peran bakteri asam laktat dalam fermentasi spontan

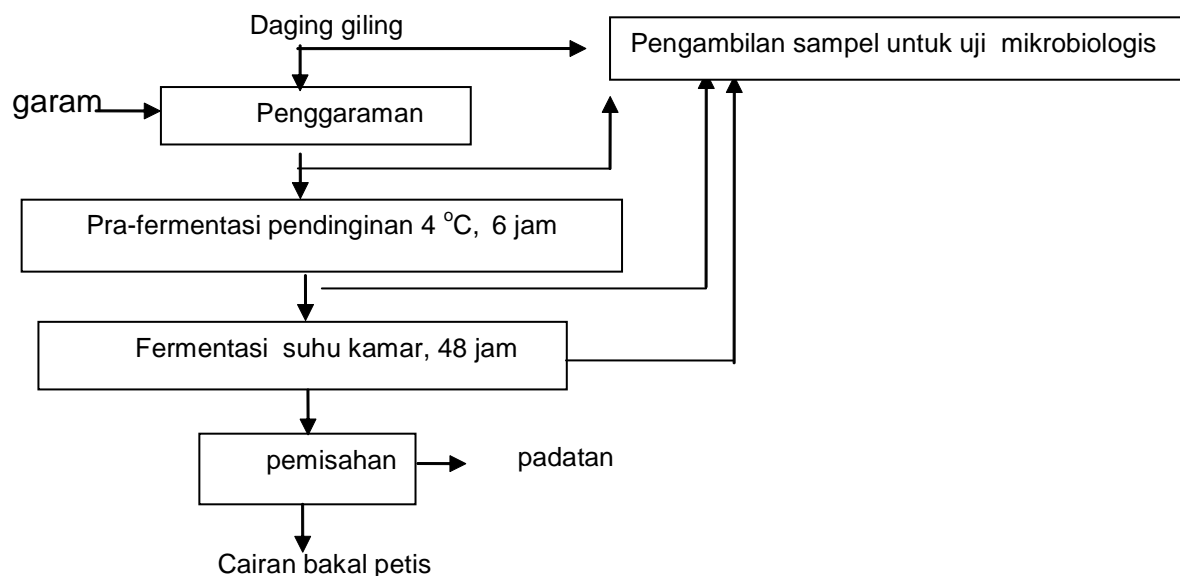
dan produk metabolik lain misalnya asam asetat, hidrogen peroksida, asetaldehid, dan bakteriosin (Lucke, 2000). Bakteri asam laktat merupakan agensia penting pada proses fermentasi daging untuk menjaga kualitas, higienitas, dan sifat sensoris produk.

Lebert *et al.* (2007) menyatakan bahwa pentingnya peran indigenous starter yang berasal dari fermentasi daging secara tradisional. Peran indigenous starter ini dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri yang tidak dikehendaki seperti patogen dan pembusuk.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat dan mengidentifikasi bakteri asam laktat pada fermentasi petis daging tradisional. Hasil penelitian diharapkan dapat untuk perbaikan proses selanjutnya dengan memanfaatkan isolat yang telah diperoleh.

## MATERI DAN METODA

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi awal *exploration experimental method* dengan 4 ulangan dan 2 anak satuan percobaan. Proses pembuatan petis daging fermentasi dan pengambilan sampel ditunjukkan dalam Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Proses Pembuatan Cairan Bakal Petis Fermentasi

adalah gabungan antara pH rendah yang terjadi (5,9 - 4,6) dengan produk metabolik lain yang mampu menghambat bakteri patogen dan pembusuk. Produk utama berupa asam laktat menyebabkan turunnya pH

Bakteri asam laktat diisolasi dengan media MRS (de-Mann Rogossa and Sharp)-CaCO<sub>3</sub> 1 % yang ditambah 10 ppm sikloheksamat untuk menekan pertumbuhan *yeast* dan 10 ppm sodium azida untuk

menghambat mikroaerob (Rahayu, 2003). Identifikasi bakteri asam laktat didasarkan pada karakter morfologi, biokimiawi, dan fisiologis.

Karakter morfologi yang diamati meliputi bentuk, ukuran sel dan susunan sel pada kultur bakteri asam laktat yang ditumbuhkan pada MRS pada suhu 30 °C selama 2 - 3 hari. *Staining* Gram dilakukan dengan metode yang umum. Karakter biokimiawi meliputi uji katalase dan pembentukan asam dengan glukosa sebagai sumber C. Uji katalase dilakukan dengan meneteskan larutan hidrogen peroksida pada kultur muda, reaksi positif jika muncul gelembung CO<sub>2</sub>. Uji pembentukan asam dengan glukosa sebagai sumber C dengan cara inokulasi menggunakan kultur bakteri umur 24 jam, kemudian diinkubasikan pada suhu 30°C selama 3 hari asam dihitung sebagai asam laktat dititrasi dengan NaOH 0,1 N dengan indikator PP (*phenol phtalin*). Banyaknya NaOH yang dibutuhkan sebanding dengan asam laktat yang terbentuk, kemudian titrasi dihentikan bila warna membentuk warna merah muda. Uji fisiologis meliputi pengujian terhadap isolat yang ditumbuhkan dalam berbagai suhu, NaCl, dan pH. Pengaruh suhu di uji pada 10°C, 30°C, 37,5°C, dan 45°C. Untuk pengaruh garam (NaCl) dengan konsentrasi 6,5%, 10%, 20%, dan 25%. Untuk pengaruh pH pada pH 4,4 dan 9,6.

Pembahasan data berdasarkan data awal yang diperoleh dari isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat. Oleh karena penelitian ini merupakan eksplorasi awal untuk itu tidak perlu dilakukan analisis sidik ragam. Pendekatannya dengan melihat sifat-sifat fenotip yang muncul berdasarkan karakter morfologi, biokimiawi, dan fisiologis.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri asam laktat berasal dari mikrobiota alami fermentasi yang berlangsung secara spontan dengan konsentrasi garam 20% (b/b). Menurut Lucke (2000), fermentasi daging dapat berlangsung dengan baik karena sangat didukung oleh kondisi daging segar serta komposisi yang sangat ideal untuk pertumbuhan optimal mikrobia. Kondisi ideal tersebut adalah kondisi pH antara 5-6,7, kandungan air yang tinggi antara 68-75%; kaya akan zat yang mengandung nitrogen; mengandung karbohidrat (dalam hal ini glikogen) yang dapat digunakan sebagai sumber karbon; kaya akan

mineral dan beberapa kelengkapan faktor lain untuk perkembangan mikrobia .

Fermentasi petis daging dilakukan selama 48 jam pada suhu kamar (26-27°C). Pada tahap isolasi dan pemurnian dipilih berdasarkan koloni yang menghasilkan zona jernih pada media MRS yang ditambah kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) 1%. Kalsium karbonat berfungsi sebagai *buffer* sekaligus seleksi awal pada bakteri penghasil asam laktat. Asam laktat akan menyebabkan zona jernih disekeliling koloni karena melarutkan kalsium karbonat sehingga dapat digunakan sebagai penanda awal koloni bakteri asam laktat (Seelly *et al.*, 2001). Pemilihan awal isolat berdasarkan zona jernih, bentuk dan ukuran koloni, untuk ditumbuhkan pada medium yang sama dengan medium goresan. Pemurnian dilakukan hingga diperoleh isolat murni.

Hasil isolasi diperoleh 11 isolat bakteri asam laktat dengan karakteristik disajikan dalam Tabel 1. Semua isolat berbentuk bulat (kokus), menghasilkan koloni dengan zona jernih pada media MRS yang ditambah kalsium karbonat 1%, bentuk sel tetrad tetapi ada yang dua-dua (+), dan reaksi pewarnaan Gram positif sebagai penanda awal isolat bakteri asam laktat. Isolat bakteri asam laktat ini positif tumbuh pada suhu kamar dan dapat tumbuh pada kadar garam 20%, dari data-data tersebut diduga kuat adalah genera *Pediococcus*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kyun-Hwa (2007) yang mengisolasi bakteri asam laktat pada makanan bergaram moderat-tinggi pada 20% (b/b) ditemukan genera *Pediococcus*. Hal ini diperkuat oleh tulisan Kerkar (2007) yang menunjukkan bahwa genera ini dapat hidup pada kisaran garam tersebut, sesuai ciri-ciri karakteristik genera tersebut menurut Axelsson (1998).

Karakter kimiawi menunjukkan semua isolat tidak menghasilkan enzim katalase (katalase negatif) dengan menghasilkan asam laktat lebih dari 1% yang menunjukkan homofermentatif, kemudian ditumbuhkan dengan sumber karbon menggunakan glukosa positif.

Karakter fisiologis ditumbuhkan dalam media dengan variasi suhu, NaCl dan pH. Semua isolat dapat tumbuh pada suhu 30°C tetapi pada suhu 10°C; 37°C dan 45°C sebagian ada yang dapat tumbuh dan sebagian ada yang tidak tumbuh. Pada variasi NaCl menunjukkan bahwa kadar 6,5%; 10%; dan 20% semua isolat dapat tumbuh dengan baik (positif) tetapi pada kadar NaCl 25% ada sebagian yang tumbuh

Tabel 1. Karakteristik Sebelas Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

| Kode isolat | Sumber isolat | Karakter penciri awal Bakteri asam laktat |                |             |            |                 |                             |                      |                |
|-------------|---------------|---|----------------|-------------|------------|-----------------|-----------------------------|----------------------|----------------|
|             |               | Morfologi sel                             |                |             | biokimiawi |                 |                             | Fisiologi            |                |
|             |               | bentuk                                    | susunan        | Reaksi Gram | katalase   | Tipe fermentasi | MRS+ CACO <sub>3</sub> (1%) | Suhu kamar (26-27°C) | NaCl 20% (b/b) |
| YDA1        | Fermt daging  | kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA2        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA3        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA4        | Fermt daging  | kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA5        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA6        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA7        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | Positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA8        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA9        | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |
| YDA10       | Fermt daging  | Kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | Positif        |
| YDA11       | Fermt daging  | kokus                                     | Tetrad/Dua-dua | positif     | negatif    | homo            | Zona jernih                 | positif              | positif        |

tetapi ada juga yang tidak tumbuh (+/-). Pada variasi pH yaitu pada 4,4 semua isolat dapat tumbuh dengan baik, sedangkan pada pH 9,6 semua tidak dapat tumbuh.

### Identifikasi Berdasar Karakter Fenotipik

Karakteristik sebelas isolat bakteri asam laktat dikaji berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt et al., 1999) dengan melihat sifat-sifat fenotip yang muncul berdasarkan karakter morfologi, biokimiawi, dan fisiologis seperti disajikan pada pada Tabel 2.

Kesebelas isolat bakteri asam laktat mempunyai karakter sel berbentuk tetrad tersusun empat-empat atau dua-dua, reaksi Gram positif, katalase negatif, produk metabolit utama berupa asam laktat, dan bersifat homofermentatif diduga kuat genus *Pediococcus*.

### KESIMPULAN

Hasil penelitian memperoleh 11 isolat bakteri asam laktat dari fermentasi petis daging tradisional dengan garam 20% (b/b) yang diberi kode *Pediococcus*

Tabel 2. Karakter Fenotipik untuk Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat

| Karakteristik       | <i>Pedio coccus</i> | Kode isolat |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |
|---------------------|---------------------|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
|                     |                     | YDA1        | YDA2 | YDA3 | YDA4 | YDA5 | YDA6 | YDA7 | YDA8 | YDA9 | YDA10 | YDA11 |
| Bentuk sel bulat    | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |
| Sel tetrad/ dua-dua | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |
| Sel tidak tunggal   | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |
| Reaksi Gram         | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |
| Katalase            | -                   | -           | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -     | -     |
| Produk as. Laktat   | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |
| Homofermentasi      | +                   | +           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +     | +     |

YDA1 *sp*, *Pediococcus* YDA2 *sp*, *Pediococcus* YDA3 *sp*, *Pediococcus* YDA4 *sp*, *Pediococcus* YDA5 *sp*, *Pediococcus* YDA6 *sp*, *Pediococcus* YDA7 *sp*, *Pediococcus* YDA8 *sp*, *Pediococcus* YDA9 *sp*, *Pediococcus sp*, *Pediococcus* YDA10 *sp*, dan *Pediococcus* YDA11 *sp*. Hal ini diharapkan dengan isolat yang teridentifikasi dapat dilakukan proses fermentasi yang terkendali untuk perbaikan kualitas produk selanjutnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Axelsson, L. 1998. Lactic Acid Bacteria : Classification and Physiology. In : Lactic Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspect. Salminen, S and A. Wright (Ed). 2<sup>nd</sup> Ed. Marcel Dekker Inc. New York. p. 8-9.
- Holt, J.G, N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Willem. 1999. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed. Will. & Wilk. Baltimore. p. 3-6.
- Kyun-Hwa, B., Sun Shin, K., Hee-Yung, H., Chon-Suk, K., dan Ho-Yong, S. 2007. Identification and Fermentation Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Broth of Korean Traditional Liquor, Andong-Soju. *Int. J. Syst. Evo.Mic.* 35 (4) : 310-315.
- Kerker, S. 2005. Ecology of Hypersaline Microorganisms. Dept of Biotech Goa Univer. Goa. p.3-4.
- Lebert, I. Talon, R. and Leroy, S. 2007. Microbial Ecosystems of Traditional Fermented Meat Products: The Importance of Indegenous Starters. *Meat Sc.* 77 : 55-62.
- Lucke, F.K. 2000. Utilization of Microbes to Process and Preserve Meat. *Meat Sci.* 56 : 105-115.
- Pramono, Y.B., Rahayu, E.S., Suparmo, dan Utami, T. 2007. Perubahan Mikrobiologis, Fisik, dan Kimiawi Cairan Bakal Petis Daging selama Fermentasi Kering Spontan. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 32 (4) : 213-221.
- Rahayu, E.S. 2003. Lactic Acid Bacteria in Fermented Food of Indonesian Origin. *Jurnal Agritek.* 23 (23) : 75-84.
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press Inc. p.145-146
- Seely, H.W., P.W. Vanden Mark and J.J. Lee. 2001. Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiuology. 4 edition. W.H. Freeman and Comp. New York p. 265-266.
- Sorensen, O., J.V. Dankersgoed, M.C. McFall, K. Maninnen, G. Gensler and G. Ollis. 2002. *Salmonella spp.* Shedding by Alberta Beef Cattle and the Detection of *Salmonella spp.* In: Ground Beef. *J.of Food. Protect.* 65(2) : 484-491.