

Karakteristik Dan Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Makanan Khas Melayu (Tempoyak) Sebagai Agensi Probiotik

Nurun Najah¹, Kartika Manalu², Rizki Amelia Nst³

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

nurunnajah05@gmail.com (1), kartikamanalu@uinsu.ac.id (2), rizkiamelianst@uinsu.ac.id (3)

ABSTRAK

Tempoyak adalah makanan tradisional melayu populer yang memiliki cita rasa yang enak dan aroma yang unik dan gurih. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi jenis isolat serta ciri dan potensi probiotik yang terdapat pada durian fermentasi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA USU. Bakteri diisolasi dari sampel tempoyak dengan metode pour plate dan dimurnikan dengan metode streak plate untuk menghasilkan biakan murni pada substrat agar laut. Ciri-ciri bakteri dan morfologi koloni diamati melalui pengujian morfologi, pewarnaan gram, dan uji biokimia. Sementara itu, uji pH rendah 3,0 dan kontrol 7,0 digunakan untuk menilai potensi probiotik, serta aktivitas bakteri patogenik. Hasil penelitian menghasilkan empat isolat murni dari genus bakteri *Lactobacillus*. Batang gram positif, koloni berwarna putih susu, putih, dan coklat, serta tahan asam atau pH rendah 3,0 dan kontrol 7,0 merupakan ciri dan morfologinya. Ini memiliki sifat antibakteri terhadap kuman berbahaya.

Kata Kunci : Tempoyak, Bakteri Asam Laktat, Probiotik

ABSTRACT

Popular traditional Malay cuisine tempoyak is known for its mouthwatering flavor and distinctive savory scent. The purpose of this study is to name the isolated strains and analyze the properties and potential of probiotics found in fermented durian. The investigation was carried out at USU FMIPA's Microbiology Laboratory. To create pure cultures on marine agar media, bacteria were first isolated from tempoyak samples using the pour plate method and then purified using the streak plate method. Gram staining, morphological testing, and biochemical tests were all used to evaluate the characteristics of the bacteria and the colony morphology. A pH test comparing levels of 3.0 and a control at 7.0, as well as an analysis of pathogenic bacterial activity, were also included in the evaluation of probiotic potential. Four pure isolates of the *Lactobacillus* bacterium genus were obtained from the study. These isolates showed gram-positive rod features, and the color of their colonies ranged from milky white to white and brown. Additionally, they showed resistance to both neutral (control at pH 7.0) and acidic (pH 3.0) environments. Notably, the isolates showed antibacterial action against bacteria that are harmful.

Keywords : Tempoyak, Lactic Acid Bacteria, Probiotics.

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Penciptaan banyak varietas makanan bayi yang menjanjikan di Indonesia dapat digunakan untuk menghasilkan makanan dengan penggunaan primer, sekunder dan tersier. Oncom, terasi, dan hidangan lainnya adalah beberapa contoh masakan Indonesia yang mungkin. Di daerah asalnya, makanan gosong ini menyebar dengan cepat di kalangan penduduk dan menjadi sumber konsumsi utama. Pengembangan pangan di Indonesia sangat penting untuk mencegah penyakit degeneratif yang semakin marak akibat kebiasaan makan dan gaya hidup (Nugraheni, 2011). Buah durian digunakan untuk membuat masakan tempoyak bakar yang merupakan makanan khas Malaysia, Kalimantan dan Sumatera. Tempoyak secara tradisional menjadi hidangan pokok suku Melayu, yang ada di Malaysia dan Indonesia dan meliputi kota Lampung, Jambi, Palembang, dan Kalimantan. Daging durian kuning matang dicampur dengan garam dan ditempatkan dalam wadah tertutup untuk menghasilkan tempoyak. Tiga hingga tujuh hari dihabiskan untuk memfermentasi sesuatu untuk memberikan rasa asam dan aroma yang unik. Sebaiknya gunakan daging durian lokal yang manis dan berkualitas tinggi. Tempoyak memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh, antara lain mendukung sistem kekebalan tubuh, pencegahan kolesterol, pengobatan diare, dan pencegahan kanker. digunakan untuk membumbui ikan, seperti saat memasak dengan ikan mas, nila, dan teri, Tempoyak memiliki rasa yang kuat, rasa asam, dan aroma yang menyenangkan. Bakteri asam laktat (BAL) terlibat dalam pengolahan tempoyak (Yuliana, 2007). Proses pengolahan tempoyak dibantu oleh bakteri asam laktat (BAL), yang merupakan mikroba alami. Bakteri asam laktat telah digunakan oleh manusia sejak lama dalam persiapan makanan. Menurut Nizori et al. (2017), bakteri ini berperan penting dalam memperpanjang umur simpan dan meningkatkan cita rasa makanan kering. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang tepat dapat meningkatkan kesehatan seseorang secara keseluruhan. Bakteri ini berfungsi sebagai alternatif pengganti antibiotik. Bakteri hidup yang menawarkan berbagai manfaat kesehatan bagi manusia disebut sebagai probiotik. Menurut FAO (2020), ciri-ciri mikroorganisme yang sehat bagi manusia antara lain memiliki dukungan fisiologis dan perilaku yang memungkinkannya bertahan dalam kondisi asam lambung dan garam empedu selama pencernaan manusia, memberikan manfaat bagi usus, dan memiliki kemampuan untuk menempel pada sel. Epitel usus besar dan kecil pada manusia.

2. Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Ciri-ciri apakah yang dimiliki oleh bakteri asam laktat pada tempe?
2. Apa manfaat bakteri asam laktat pada tempoyak sebagai probiotik?

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri asam laktat yang terdapat pada tempoyak.
2. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah asam laktat pada tempe berperan sebagai agen probiotik..

4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Masyarakat dapat mengetahui manfaat kesehatan dari tempoyak, makanan pokok orang Melayu, dan dapat memahami sifat bakteri asam laktat yang berkontribusi pada pembakaran tempoyak yang tepat serta kemungkinan manfaat kesehatan dari probiotik.
2. Khusus bagi individu yang berminat untuk melakukan penelitian serupa di masa mendatang, para ilmuwan dan peneliti dapat menggunakan penelitian ini sebagai

referensi untuk penelitian dan pengembangan lebih lanjut.

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober - November 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara yang terletak di jalan Dr. T. Mansur No. 9, Padang Bulan, Kecamatan Medan, Sumatera Utara.

Rancangan penelitian atau metodologi

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif eksperimental yang bertujuan untuk mempelajari isolasi bakteri asam laktat (BAL) dalam makanan khas Melayu, yaitu tempoyak, sebagai agen probiotik.

Bahan dan Peralatan

1. Instrumen Penelitian

Jenis alat yang digunakan dalam penelitian ini bermacam-macam, antara lain toples, loop jarum, tetes pipet, tabung reaksi, preparat gelas, gelas objek, bunsen, mikroskop, cawan petri, erlenmeyer, vortex, autoklaf, inkubator, oven, hoplet, alat ukur. gelas, spatula, mikropipet, pH meter, jangka sorong, kamera, alat tulis, dan sebagainya.

2. Sumber Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini bermacam-macam, seperti tempoyak, nutrien broth (NB), ragosan shrape agar (MRSA), rogosa sharp borth media (MRSB), muller hiton media (MHA), simon citrate agar (SCA) media), media triple sugar iron agar (TSIA), Escherichia coli, aseton, larutan NaOH, HCl, kristal violet, alkohol, safranin, NaCl, etanol 70%, lugol, air suling, kertas cakram, aluminium foil, kapas, cling, dan pepton. Escherichia coli, aseton, larutan NaOH, HCl, kristal violet, alkohol, safranin, NaCl, etanol 70%, lugol, air suling, kertas cakram, aluminium foil, kapas, cling, dan pepton.

Tahapan Penelitian

1. Sterilisasi alat

Semua media dan peralatan yang akan digunakan saat ini disterilkan terlebih dahulu. Autoklaf digunakan untuk mensterilkan alat dan media selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15.

2. Fermentasi Sampel

Dengan memisahkan biji durian dari dagingnya, dilakukan fermentasi sampel. Daging durian yang telah dibelah kemudian ditempatkan dalam wadah tertutup.

3. Tahap Persiapan Sampel

Satu gram sampel yang dihasilkan ditempatkan dalam tabung reaksi steril sebelum diencerkan dengan larutan pepton fisiologis steril dengan rasio pengenceran 10-1-10-6.

4. Bakteri Asam Laktat dari Isolasi Fermentasi Tempoyak

Menggunakan mikropipet dan sebanyak 1 ml sampel tempoyak yang telah diencerkan 10-4-10-6 lalu, ditumbuhkan MRSA pada media dengan teknik pour plate.

5. Uji Morfologi Makroskopik

Isolat yang tumbuh pada media agar dilakukan uji morfologi makroskopik yang meliputi pemeriksaan warna, bentuk, tepi, permukaan, dan sudut elevasi isolat secara dekat (Febrina, 2018).

6. Uji Potensi Probiotik

Uji Ketahanan Asam PH Rendah dan Uji Biokimia.

III. HASIL PENELITIAN

1. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Tempoyak

Isolat bakteri asam laktat dideskripsikan untuk membedakan isolat yang masih dalam biakan campuran dan untuk memungkinkan produksi biakan murni. Morfologi koloni yang memiliki bentuk seperti koloni, peninggian koloni, dan morfologi sel yang terdiri dari bentuk dan pewarnaan gram, semuanya terlihat selama karakterisasi ini. Karakteristik fisiologis termasuk tes sitrat, katalase, gula, dan motilitas juga diamati. Media MRSA dan media MRSB yang merupakan dua jenis media yang digunakan dalam prosedur isolasi masing-masing ditimbang 1 gram. Media kemudian diencerkan secara bertahap hingga konsentrasi 10⁻⁴ hingga 10⁻⁶. Kemudian, kurang dari satu menit, masing-masing tabung reaksi divortex. Hasil pengenceran kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri dengan menggunakan teknik spread plate, dimana dilakukan masa inkubasi selama 24 jam. Terdapat 10 koloni dengan ciri berwarna putih susu, kuning, dan coklat yang berkembang pada media MRSA setelah masa inkubasi 24 jam.

2. Morfologi koloni

Dalam proses isolasi 4 bakteri berbeda memanfaatkan asam laktat dari ransum tempoyak rata-rata. Setiap isolat tumbuh subur pada media MRSA dan memiliki bentuk koloni yang unik. Keempat strain yang diisolasi bervariasi dalam karakteristik koloninya. Aspek morfologi perjudian tetap mengikuti sejumlah norma morfologi, seperti koloni yang berkembang pada media MRSA dan dapat dilihat di bawah mikroskop dengan berbagai perbesaran. Hasilnya, warna, bentuk, dan posisi koloni yang berkembang pada medium dapat terlihat bersama dengan aspek pertumbuhan koloni lainnya. Temuan yang diperoleh kemudian ditampilkan pada tabel 3.3. (Sabdanigsih, 2013).

Tabel 1. Karakteristik Isolat Asam Laktat Yang Diperoleh Dari Tempoyak

No	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Bakteri			
		Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
1.	Sp 1	Bulat	Halus	Timbul	Putih
2.	Sp 2	Menyebar Tidak Teratur	Tidak Teratur	Datar	Putih susu
3.	Sp 3	Bulat	Halus	Datar	Putih susu
4.	Sp 4	Menyebar Tidak Teratur	Gelombang	Datar	Coklat

Salah satu kegunaan yang tidak beraturan dari bentuk bulat isolat yang dengan itu adalah ciri dari bakteri asam laktat. Secara umum, margin isolat halus, tetapi beberapa memiliki tepi khas yang bergelombang atau tidak rata. Tepi isolat terlihat halus dan seragam, hanya dengan satu pengecualian bagian yang menonjol. Sebagian besar isolat yang ditemukan pada penelitian ini memiliki rona putih, putih susu, atau coklat. Hurmalinda dkk (2013) menyatakan bahwa bakteri asam laktat seringkali memiliki sejumlah sifat unik, antara lain berbentuk batang, gram positif, dan tidak memiliki spora, yang biasanya terdapat pada bakteri laktat. Menurut Mustopa (2014), penelitian sebelumnya terhadap bakteri asam laktat dari durian tempoyak menunjukkan adanya beberapa varietas meskipun terputus dari negara lain seperti Indonesia dan Malaysia. Temuan isolasi dari tempoyak Indonesia yang digunakan dalam penelitian Issa pada tahun 2000 mengungkapkan *L. Plantarum* dan *L. Corynebacteria*.

3. Pewarnaan Gram

Untuk membedakan antara bakteri gram positif dan gram negatif di laboratorium, frasa "pewarnaan gram" sering digunakan. Beberapa zat, termasuk lugol, gentian violet, alkohol, dan safranin, digunakan dalam prosedur pewarnaan gram. Pada kondisi yang dimanfaatkan, bakteri akan menyerap lebih banyak warna ungu (gentian violet) jika positif, dan lebih banyak merah (safranin) jika negatif (Saroh, 2011).

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Asam Laktat Yang Diperoleh Dari Tempoyak

No	Kode Sampel	Pewarnaan Gram		
		Warna	Bentuk	Keterangan
1	Sp 1	Ungu	Basil	Gram positif
2	Sp 2	Ungu	Basil	Gram Positif
3	Sp 3	Ungu	Basil	Gram Positif
4	Sp 4	Ungu	Basil	Gram Positif

Menurut studi tahun 2009 oleh Pelczar dan Chan, bakteri gram positif memiliki dinding sel tebal dengan ketebalan berkisar antara 15 hingga 80 nm, mengandung sedikit lipid, dan memiliki peptidoglikan yang tebal. Oleh karena itu, bakteri gram positif ini memiliki penampilan ungu. Bakteri gram negatif, di sisi lain, memiliki dinding sel yang lebih tipis, yang memungkinkan mereka mempertahankan rona merahnya. Safranin menurunkan kualitas pengamatan karena pori-pori dinding sel memungkinkan warna merah terserap olehnya. Secara terus menerus, pengamatan yang dilakukan dengan mikroskop tampak kurang jelas.

4. Ketahanan Bakteri Asam Laktat Terhadap Kondisi pH saluran Pencernaan

Pada dasarnya bakteri asam laktat ini memiliki pertumbuhan pH yang sangat tinggi, namun ada sebagian kecil bakteri asam laktat yang berkembang lebih lambat karena pH lingkungan tempat mereka berada lebih rendah sehingga menyebabkan kerusakan yang akhirnya mengakibatkan kematian. Selain itu, tergantung pada strain bakteri dan lingkungannya, bakteri tersebut dapat bertahan hidup (Susanti et al., 2007).

Tabel 3. Keterangan Isolat Asam Laktat Dari Tempoyak Yang Tumbuh Pada pH Rendah Dan Kontrol

Isolat	Keterangan	
	Uji Ketahanan Asam (3,0)	Ph Kontrol (7,0)
Sp 1	41	TBUD
Sp 2	43	TBU
Sp 3	TBUD	-
Sp 4	TBUD	53

Ket : TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung (-) : Tidak Tumbuh

5. Uji Aktivitas Antimikroba Probiotik Dalam Menghambat Bakteri Patogen

Tabel 4 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Asam Laktat Yang Diperoleh Dari Tempoyak Dalam Menghambat Bakteri Patogen.

Isolat	Mikroba Uji	Diameter Bening (mm)	Zona	Keterangan Isolat
Sp 1	<i>Escherichia coli</i>	10,3		Sedang Kuat
Sp 2	<i>Escherichia coli</i>	11,3		
Sp 3	<i>Escherichia coli</i>	12,3		Kuat Kuat
Sp 4	<i>Escherichia coli</i>	12,9		

Dari tabel di atas, dapat kita lihat bahwa isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari tempoyak memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen yang diklasifikasikan sebagai kuat.

6. Uji Pengamatan Biokimia

Pewarnaan gram dan uji probiotik dilakukan terhadap isolat-isolat bakteri, kemudian diuji menggunakan uji biokimia untuk mengidentifikasi karakteristik biokimia masing-masing isolat. Uji biokimia mencakup uji fermentasi gula, uji sitrat, uji motilitas, dan uji katalase. Informasi hasil pengamatan uji biokimia dapat ditemukan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.5 Pengamatan Uji Biokimia

No	Kode Isolat	Uji Biokimia			
		Uji Fermentasi Gula / TSIA	Uji Sitrat	Motilitas	Katalase
1	Sp 1	A/K	-	-	-
2	Sp 2	A/K	-	-	-
3	Sp 3	A/K	-	-	-
4	Sp 4	A/K	-	-	-

Keterangan; A/A : Asam / Asam K/A : Basa / Asam A/K : Asam / Basah K/K : Basah / Basah K/A Gas : Basah / Asam + Menghasilkan Gas

7. Penentuan genus Bakteri Asam Laktat Dari keempat Isolat Yang Didapat

Berdasarkan hasil dari pewarnaan gram dan uji biokimia pada keempat isolat bakteri probiotik setelah dibandingkan dengan buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994), ditemukan kesamaan dalam karakteristik dengan genus *Lactobacillus*. Genus ini memiliki pewarnaan gram positif dan sel berbentuk batang lurus dengan ukuran antara 0,5 sampai 2,5 dan sering tersusun dalam pasangan atau tunggal, dengan ujung yang berbentuk bulat atau persegi. Isolat yang diduga sebagai genus *Lactobacillus* memenuhi kriteria sifat katalase negatif, pewarnaan gram positif, dan motilitas nonmotil dengan sel batang yang bengkok. Dalam penelitian Nizorin dan koleganya tentang fermentasi tempoyak durian, ditemukan genus bakteri *Lactobacillus*. Mereka mengidentifikasi beberapa bakteri berdasarkan reaksi kimia, pewarnaan gram positif dan gram negatif, yang disebabkan oleh perbedaan lapisan dinding sel. Kelompok bakteri yang memiliki bentuk batang tidak bergerak dan katalase negatif adalah kelompok genus *Lactobacillus* (Nizorin et al., 2017).

8. Genus *Lactobacillus*

Lactobacillus adalah salah satu jenis bakteri yang bermanfaat untuk dikonsumsi dan umumnya ditemukan di saluran pencernaan hewan dan manusia dengan jumlah yang paling banyak (Manin et al, 2006). *Lactobacillus* memiliki manfaat yang penting dalam proses fermentasi makanan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Beberapa contoh produk hasil fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat, seperti yoghurt, keju, susu fermentasi, tempoyak, dan sawi-sawian. Genus *Lactobacillus* adalah kelompok terbesar bakteri yang memiliki potensi probiotik (Otioeno, 2011). Banyak spesies *Lactobacillus* digunakan dalam produksi makanan yang difermentasi sebagai starter kultur atau pengawet makanan (Salveti et al, 2012).

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh adalah :

1. Karakteristik bakteri asam laktat yang ditemukan dari pemurnian tempoyak sebagian

Najah N, Manalu K, Amelia Nst R : Karakteristik Dan Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Makanan Khas Melayu (Tempoyak) Sebagai Agensi Probiotik

besar berasal dari bakteri gram positif berbentuk batang, dengan koloni berwarna putih susu, krim, putih, dan coklat. Penemuan ini didasarkan pada identifikasi morfologi dan uji biokimia yang dibandingkan dengan buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994), yang menempatkan bakteri ini dalam genus *Lactobacillus*.

- Keempat bakteri yang ditemukan memiliki ketahanan terhadap kondisi asam dan pengendalian pH lingkungan, serta menunjukkan sifat dan perilaku yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen. Oleh karena itu, keempat bakteri asam laktat ini dapat digunakan sebagai probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrams, D., J., Albano, H., Silvia, J., Gibbs, P. A., Teixeira, P. 2011. "Characterization of bacPPK34 a Bacteriocin Produced by *Pediococcus Pentosaceus* Strains K34 Isolated From Alheira". *Jurnal Food Control*. 22:940-946.
- Febrina, Tria Nyoman Ni. 2018. Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Dari Susu Segar Kambing Etawa Yang di Fermentasikan Dalam Bambu Betung Dan Bambu Tali. Skripsi.
- Ferdous, Fani. Meiliani, O., dkk. 2008. Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan alium Karbonat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat Dari Kulit Pisang. *Jurnal Teknik*. Vol 7. No 1.
- Harmayani, Eni. Dkk. 2019. Makanan Tradisional Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada Universitas Press.
- Irdawati., Mades F., dan Nofri Y., 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan., *Jurnal Eksata.*, 1 (16), 73-81.
- Issa Z. M. 2000. Molecular Characterization of *Lactobacillus Plantarum* Isolated From Malaysia Fermented Food. Malaysia : Universitas Putra Malaysia.
- Mustaqim, Roza, R. M., dan Fibrianti, B. L. (2014). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Probiotik Pada Saluran Pencernaan Pangan Sosial. Bogor : IPB Press.
- Nizori, Addion. Dkk. 2017. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Tempoyak Asal Jambi Dari Berbagai Konsentrasi Garam". *Jurnal Prosiding Seminar Indonesia*.
- Nugraheni, Mutiara. 2011. "Potensi Makanan Fermentasi Sebagai Makanan Fungsional". *Jurnal Wonderful Indonesia*. Vol 1. No 3.
- Sabdaningsih. Dkk., 2013. Isolasi dan Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Akademika Biologi*. Vol 2. No 2. Hlm 11-17.
- Saroh, Siti. 2011. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus undatus*) dan Ekstark Ubi Jalar Varietas Ungu (*Ipomoea batatas*) Sebagai Pewarna Alami Untuk Pengamatan Stoma. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Susanti et al. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik Bahan Fungsional. *Jurnal Teknologi Industri Pangan*. Vol 18. No 2.
- Yuliana, Neti., 2007. Perubahan Karakteristik Biokimia Fermentasi Tempoyak Menggunakan *Pediococcus acidilactici* Pada Tiga Tingkat Konsentrasi Gula. *Jurnal Agritech*.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
12 Juli 2023	15 Oktober 2023	05 November 2023	Ya