

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN KARAKTERISASI
PROTEASE DARI FERMENTASI KAKAO VARIETAS HIBRID
DISIKUCUR PARIAMAN SERTA ISOLASI PLASMIDNYA**

SKRIPSI SARJANA KIMIA

Oleh :

WIDE PRIMA SARI

0613020



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS**

PADANG

2011

ABSTRAK

ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA PROTEASE DARI FERMENTASI KAKAO VARIETAS HIBRID DISIKUCUR PARIAMAN SERTA ISOLASI PLASMIDNYA

Oleh

Wide Prima Sari (06132020)

Dibimbing oleh : Prof. Dr. Sumaryati Syukur, M.Sc dan Dra. Marniati Salim, MS.

Telah diisolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari fermentasi kakao (*Theobroma cacao linn*) varietas *Trinitario* (hibrid) pada waktu 36 jam. Hasil fermentasi bakteri ditanam ke media MRS agar yang sebelumnya telah diperkaya pada media MRS broth dan didapatkan 8 isolat. Bakteri yang dihasilkan berbentuk kokus yang dapat menyerap warna violet yang menandakan bakteri itu bakteri gram positif. Semua isolat BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Isolat yang memberikan indeks hambat tertinggi adalah H4. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan menurut metoda Anson dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm. Aktivitas enzim optimum dengan substrat kasein sebesar 7,43 U/ml, suhu 40 °C dan pH = 7. Dari isolasi plasmid yang dilakukan didapatkan DNA Plasmid sebesar 2000 bp.

Kata kunci: fermentasi kakao, isolasi plasmid, BAL, protease

BAB I PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Kakao (*Theobroma cacao* L) merupakan bahan makanan yang mengandung nutrisi yang relatif lengkap, karena didalamnya terdapat lemak, protein, karbohidrat, vitamin, mineral dan senyawa bioaktif lainnya. selain itu, lendir yang terdapat pada biji kakao mengandung substrat penting yang dibutuhkan oleh berbagai mikroba untuk tumbuh dan berkembang selama proses fermentasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ardhana tahun 2001, fermentasi yang dilakukan secara alami teridentifikasi adanya mikroba yang berkembang pada lendir, seperti : bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan yeast².

Lendir kakao biasanya berwarna putih atau putih keunguan mengandung gula seperti : glukosa, fruktosa dan sukrosa serta memiliki pH yang rendah (3,0-3,5). Kondisi ini sangat cocok untuk pertumbuhan ragi dan bakteri asam laktat. Hasil penelitian S, Thompson dan J. Pfeifer membuktikan bahwa pada fermentasi kakao diperoleh berbagai bakteri asam laktat seperti : *lactobacillus plantarum*, *lactobacillus mali*, *lactobacillus collinoides*, dll, dan berbagai bakteri asam asetat dan mikroba lainnya³.

Proses fermentasi dilakukan bertujuan untuk menumbuhkan cita rasa, aroma dan warna, karena selama fermentasi berlangsung akan terjadi perubahan fisika, kimia dan biologi dalam biji kakao. Perubahan biokimia selama fermentasi dilakukan oleh mikroba. Pada 24 jam pertama enzim akan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Mikrobia tumbuh pada gula ini dan suhu akan naik menjadi 4- 50 °C dan terjadilah perubahan warna pada biji kakao. Berbagai mikroba akan tumbuh disini. Pulp mengandung air dengan gula 10 – 15%. kandungan gula yang tinggi dalam pulp akan memacu pertumbuhan khamir yang mengubah gula menjadi alkohol dalam suasana anaerob. Spesies khamir yang sering ada adalah: *Caccharomyces cerevisiae*, *Candida rugosa* dan *Kluyveromyces marxianus*.

Selain menghasilkan alkohol juga menghidrolisis pektin yang menutupi biji. Khamir akan mati oleh alkohol yang dihasilkan dan juga oleh suhu yang makin tinggi. bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* dan *Streptococcus* akan tumbuh. Pulp diaduk untuk aerasi. Adanya oksigen dan pH rendah menjadikan bakteri asam asetat tumbuh (*Acetobacter* dan *gluconobacter*).

Fermentasi biji kakao mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL) . Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. BAL mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin⁴. Dengan terbentuknya zat antibakteri dan asam maka pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *E. coli* akan dihambat. Bakteri yang termasuk kelompok BAL adalah *Aerococcus*, *Alloccoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus*⁶.

BAL dikenal karena produksi senyawa antimikrobanya seperti bakteriosin. Bakteriosin BAL didefinisikan sebagai protein yang disintesis pada ribosom dan merupakan protein kompleks yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Plasmid merupakan molekul DNA sirkular kecil yang dapat masuk ke dalam bakteri dan bereplikasi sendiri, terpisah dari genom inang. Plasmid biasanya mengode gen yang memberikan sifat tertentu pada bakteri

Bakteriosin yang dihasilkan BAL merupakan substansi protein, umumnya mempunyai berat molekul kecil serta memiliki aktivitas sebagai bakterisidal dan sintesis protein ini dikode oleh plasmid.

BAL pada umumnya menghasilkan protease yang mampu memecah protein menjadi asam laktat. Protease adalah enzim yang dapat mendegradasi substrat berupa protein menjadi asam amino.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ekspo Kadis Dinas Perkebunan Pemerintah Propinsi Sumatra Barat. Pengembangan Kakao di Sumatera Barat Menuju Sentra Produksi Indonesia Bagian Barat Tahun 2010. 29 juni 2006.
2. Ardhana, Made M. 2002. The Microbial Ecology of Cacao bean Fermentation in Indonesia. *International Journal of food Microbiology* 86 (2003) 87-99.
3. Thompson, S.S., Miller, K.B., Lopez, A.S., 2001. Cocoa and coffee. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, DC, pp. 721-736.
4. Afrianto, E., dan E. Liviawaty. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Kanisius. Yogyakarta. 125 hlm.
5. Ali. G.R.R. and S. Radu. 1998. *Isolation and Screening of Bacteriocin Producing LAB from Tempeh*. University of Malaysia
6. Rostini, Iis. Peranan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum*) terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah pada Suhu Rendah. Tesis Master Fakultas Perikanan dan ilmu Kelautan Universitas Padjajaran. Jatinangor. 2007.
7. Carl E Hansen, Margarita del Olmo and Christine Burri. 1998. Enzyme Activities in Cocoa Beans During Fermentation. *J Sci Food Agric*: 77, 273-281.
8. Feliatra, Irwan Efendi. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan*. Jurnal Natur Indonesia . Pekan Baru. 2004.
9. Haryanto, R. *Antara Antibiotik, Probiotik dan Prebiotik*. Asisten mobil lab Basic Science Center ITB, Bandung. 2005.
10. Jamsari. *Bioteknologi Pemula Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler*. Unri Press. Riau. 2007
11. Komang, W.G. *Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Antimikroba*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor (2005).
12. Purwati, Endang. *Pemanfaatn Blondo VCO sebagai Sumber Protein*. Seminar Penyuluhan Petani Kelapa. Kota Pariaman. 29 November 2004