

Kajian Fisiologis dan Perkembangan Bakteri-Bakteri Asam Laktat pada Beberapa Medium Cair dalam Pengadaan Bank Mikroba

Oleh:

Dr.phil.nat. Nurmiati, Drs. Irsyad Agus, MP dan Dr.phil.nat. Periadnadi

ABSTRAK :

Ber macam-macam media cair alami yang mudah didapatkan seperti air tebu, air kelapa, nira aren, susu sapi segar, susu skim, susu kedelai disamping berbagai medium cair yang berkomposisi gula-gula sederhana seperti gula pasir, glukosa, fruktosa dan laktosa digunakan sebagai medium cair untuk pertumbuhan bakteri-bakteri asam laktat dalam penyimpanan bakteri-bakteri asam laktat pada suatu bank mikroba. Bakteri-bakteri asam laktat yang digunakan diantaranya *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesentroides*, *Pediococcus acidilactisi*, dan bakteri-bakteri alami dadih sebagai pembanding bakteri-bakteri asam laktat alami. Pengamatan meliputi kajian fisiologis, biokimia serta mikrobiologis dari bakteri-bakteri asam laktat. Analisa yang dilakukan meliputi antara lain perkembangan populasi bakteri, perkembangan nilai pH, kadar gula awal dan akhir, kadar-kadar asam total, alkohol dan ester, laju fermentasi dan CO_2 yang dibebaskan. Dari hasil Penelitian didapatkan bahwa bakteri-bakteri asam laktat tumbuh dan berkembang pada media cair alami dan media gula. Media cair alami yang paling disukai adalah air tebu dan nira aren sedangkan *Streptococcus lactis* adalah bakteri asam laktat yang dapat berkembang dengan baik pada semua media yang dicobakan.

PENDAHULUAN

Susu beserta produk-produk olahannya sudah lama dikenal sebagai minuman/makanan sehat dan merupakan bahan makanan yang sangat berharga secara fisiologis karena susu mengandung hampir semua nutrisi yang dibutuhkan untuk hidup sehingga susu tidak bisa dipisahkan dari kehidupan manusia. Seiring dengan kemajuan pengetahuan masyarakat, kepentingan dan kebutuhan akan susu akhir-akhir ini semakin meningkat dan keanekaragaman produknya juga semakin bervariasi. Begitu juga halnya dengan keberadaan produk susu hasil fermentasi yang sehat (joghurt, susu asam, keju muda, mentega dan lain-lainnya) mulai banyak dikenal.

Produk olahan fermentasi susu tradisional dadih merupakan makanan fermentasi susu asli Sumatera Barat yang sebenarnya tak lain mirip dengan joghurt di dunia Barat yang biasa dihidangkan sebagai sarapan pagi, dan dessert. Namun kurangnya pengetahuan

masyarakat atau tidak mengerti pada kebaikan makanan fermentasi jenis ini, maka dadih diabaikan dan dianggap kurang bergengsi, padahal disamping nilai gizi, dadih juga merupakan media penunjang pencernaan yang sehat karena kehadiran mikroba yang menguntungkan (bakteri-bakteri asam laktat) yang terdapat di dalamnya. Bakteri-bakteri pembentuk asam laktat dikenal dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri gram negatif hingga memberi keseimbangan komposisi bakteri-bakteri usus besar. Selain kebaikan bakteri asam laktat dalam kesehatan, bakteri-bakteri ini dan produk-produknya sering digunakan pada proses pembuatan makanan dan minuman, makanan ternak dan industri, serta sering juga ditambahkan dalam pengawetan makanan karena dapat menekan pertumbuhan bakteri-bakteri pembusuk.

Akhir-akhir ini penggunaan dan permintaan bakteri ini meningkat, tapi sering tidak terpenuhi karena tidak adanya bank mikroba. Kesulitan membiakkan bakteri asam laktat juga suatu kendala dalam pengadaan biakan murni serta meregenerasi biakan selanjutnya. Untuk bakteri asam laktat hal ini masih dipersulit lagi oleh sifat fisiologisnya yang sangat beragam seperti mempunyai sifat fermentatif yang tidak sama. Genus yang sama misalnya *Lactobacillus* dapat mempunyai sifat fermentatif yang berbeda. Selain itu waktu fermentasi yang singkat juga merupakan masalah dalam menjaga kesinambungan biakan murni bakteri ini, sehingga perlu adanya penelitian tentang kemungkinan penggunaan media alami yang banyak tersedia di lingkungan. Media terbaik yang diinginkan untuk kesinambungan bakteri-bakteri ini adalah media efektif yang dapat menjaga kesinambungan bakteri dengan profil pertumbuhan yang lebih lama tanpa merubah sifat asli bakteri-bakteri ini. Perlakuan penggunaan medium cair yang mudah didapat di lingkungan kita diharapkan akan dapat mempermudah perbanyakan biakan yang sekaligus merupakan starter siap pakai penggunaan bakteri ini.

Untuk pemeliharaan biakan yang berkesinambungan perlu dilakukan pemetaan profil perkembangan dan sifat fermentatif yang jelas bagi masing-masing bakteri laktat ini. Penentuan sifat fermentatif dilihat dari hasil analisa produk yang dihasilkan. Pemetaan sifat fermentatif (homo- atau heterofermentatif) bakteri-bakteri asam laktat ini, akan memperjelas sifat-sifat karakteristik bakteri-bakteri ini dalam menghasilkan produk akhir seperti ada tidaknya atau seberapa banyak konsentrasi alkohol, asam asetat dan ester yang dihasilkan.

Secara umum dalam industri asam laktat hasil pengolahan susu terdiri dari famili *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* (*Streptococcus*, *Leuconostoc*), *Actinomycetaceae*

(Bakteri *Bifido*)(Czermak, 1993; Donhauser, 1997). Karakteristik utama dari semua bakteri asam laktat adalah membentuk asam laktat. Dikenal fermentasi homolaktat yang dilakukan oleh bakteri asam laktat homofermentatif diantaranya *Lactobacillus* dan *Streptococcus* dan Betabakteri (*L. brevis* dan *fermentum*) adalah gram positif, katalase negatif dan mikroaerophil sampai anaerob (Czermak, 1993) dan genus *Pediococcus* juga termasuk golongan bakteri ini (Fardiaz, 1988). Bakteri golongan ini dapat menghambat bakteri pembusuk karena produksi asam laktatnya yang tinggi, hingga sering digunakan dalam pengawetan makanan. Karena bakteri ini memproduksi asam laktat murni (*L. delbruekii*), maka bakteri ini juga sangat penting dalam pembuatan asam sedangkan *Lactobacillus* termasuk bakteri asam laktat yang penting dalam pembentukan aroma (Fardiaz, 1988; Czermak, 1993).

Grup bakteri asam laktat lainnya dikenal bersifat heterofermentatif, karena selain memproduksi asam laktat juga memproduksi CO₂, asam asetat dan ethanol. Bakteri ini seperti *L. brevis* dan *Leuconostoc mesentroides* merupakan bakteri asam laktat mikroaerophil, anaerob fakultatif (Czermak, 1993). Bakteri asam laktat yang tergolong heterofermentatif diantaranya *Leuconostoc* dan beberapa *Lactobacillus*. Pada *Leuconostoc* pemecahan glukosa menjadi asam piruvat, asetat dan ethanol dan CO₂ terjadi melalui jalur HMF sedang pada *Lactobacillus* sifat ini terjadi melalui jalur Fosfoketolase (Fardiaz, 1988).

BAHAN DAN METODA

Bahan-bahan yang digunakan :

- Bakteri-bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesentroides*, *Pediococcus acidilactisi* dan Bakteri alami dadih. Adapun media cair alami yang digunakan Air tebu, Air kelapa, Nira aren, Susu sapi segar, Susu skim, Susu kedelai. Untuk media cair gula digunakan gula-gula sederhana Glukosa, Fruktosa, Gula pasir (Sukrosa) dan Laktosa.
- Untuk pengembangan dan perbanyakkan bakteri-bakteri asam laktat digunakan Medium MRS-Agar, Medium Yeast Glukosa Agar, Medium Glukosa Yeast Pepton Agar Laktosa, Glukosa, Fruktosa, Gula pasir (Sukrosa).

- Bahan-bahan lain yang digunakan adalah diantaranya Akuades, Kapas, Zat warna positif dan Gram, Bacto Agar, Trypton, Pepton dan Yeast ekstrak.

b. Cara Kerja

- Persiapan media cair alami

Media cair alami air kelapa, air tebu, nira aren dan susu sapi digunakan tanpa penambahan apapun dan tanpa pengenceran. Susu skim yang digunakan dipersiapkan dengan konsentrasi 100 g susu skim/l air. Susu kedelai disiapkan dengan konsentrasi 250 g kedelai /l air.

Semua media cair alami disterilkan dalam suhu 100°C selama 30 menit dengan tekanan 5 Lbs dalam tempat-tempat yang telah disterilkan terlebih dahulu.

- Persiapan media gula

Media yang mengandung 10% gula (gula pasir, laktosa, glukosa dan fruktosa) disterilkan selama 15 menit dalam tekanan 15 lbs pada suhu 121°C dalam tempat-tempat bertutup kapas dan kertas koran.

- Pembuatan Inokulum Bakteri

Inokulum bakteri asam laktat yang digunakan dipersiapkan dari biakan miring masing-masing bakteri yang berumur 3 hari. Masing-masing bakteri dipisahkan dari medium miring dengan menggunakan akuades steril dan diinokulasikan langsung ke dalam media cair yang digunakan.

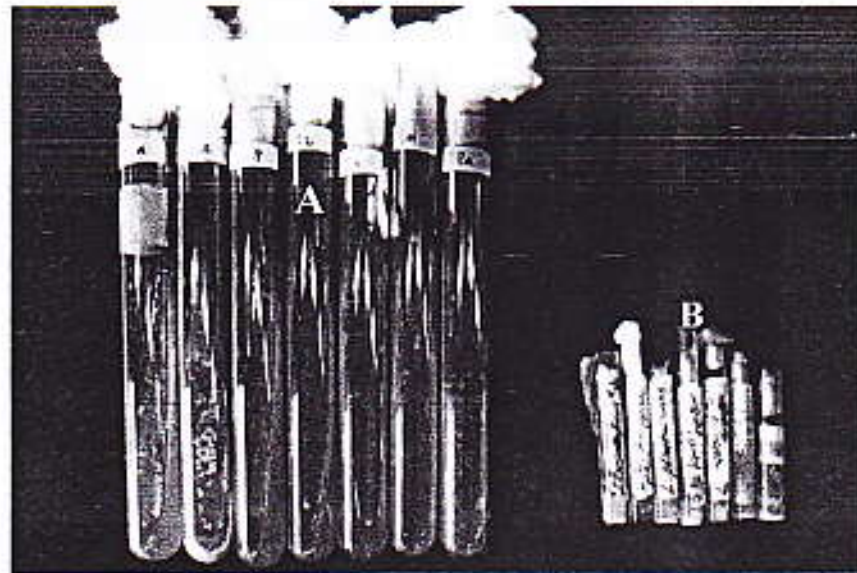
- Pengamatan

Pengamatan meliputi perkembangan populasi bakteri, perkembangan nilai pH medium cair, analisa gula dan asam medium cair. Pengamatan juga meliputi perkembangan makroskopis dan mikroskopis masing-masing bakteri-bakteri asam laktat serta masing-masing medium.

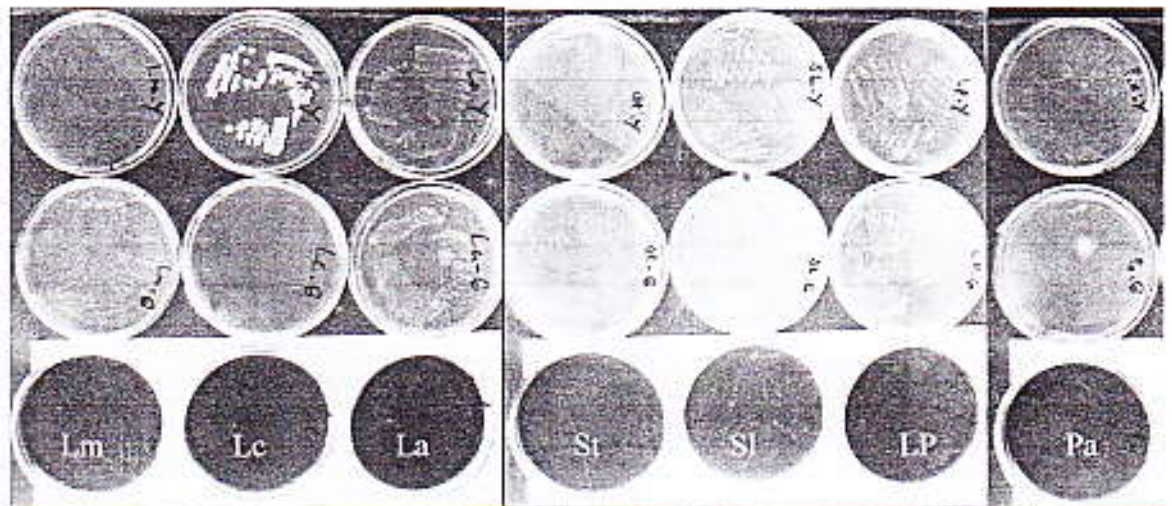
HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri-bakteri laktat atau bakteri-bakteri susu yang berasal dari biakan murni bentuk lyophilisat setelah penambahan akuadest steril berglukosa 10% langsung goreskan ke dalam

biakan miring YGA (Yeast Glukosa Agar) untuk perbanyakkan biakan murninya. Masing-masing biakan murni hasil peremajaan ini :



Gambar A. Biakan murni dalam Yeast Glukosa Agar Gambar B.: : Biakan murni dalam sediaan ampul
 Gambar C. : Biakan Murni dalam 3 jenis Medium yang berbeda



Keterangan : La: *Lactobacillus acidophilus* (FNCC-05, 7. 05); Lc: *actobacillus casei* (FNCC-0090, 1/3/06); Lp: *Lactobaeillus plantarum* (FNCC-0027, 9/8/05); St: *Streptococcus lactis* (FNCC- 0086, 4/7/05); St: *Streptococcus thermophilus* (FNCC-0040, 25/10/05); Lm: *Leuconostoc mesentroides* (FNCC-0023, 093); Pa: *Pediococcus acidilactisi* (Ind. 3, 8/12/2000); Y :Medium Yeast Glukosa Agar, G : Glukosa Yeast Pepton Agar, M: MRS Agar

5.2. Populasi dan pH dalam media alami

5.2.1. Populasi awal bakteri-bakteri laktat perlakuan media alami

Bakteri-bakteri laktat atau bakteri-bakteri susu yang berasal dari biakan murni bentuk lyophilisasi setelah melalui pengaktifan 1 x 24 jam melalui media starter steril berglukosa 10% setelah dihitung jumlah populasi awalnya melalui metoda penuangan plate count YGA hingga didapatkan hasilnya sebagaimana Tabel 1. berikut :

Tabel 1. : Populasi awal masing-masing bakteri asam laktat ($\times 10^8$ cfu/ml)

No.	Bakteri	Populasi
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	35,2
2	<i>Lactobacillus casei</i>	284
3	<i>Lactobacillus plantarum</i>	32,
4	<i>Streptococcus lactis</i>	82,4
5	<i>Streptococcus thermophilus</i>	165
6	<i>Leuconostoc mesentroides</i>	70,4
7	<i>Pediococcus acidilactisi</i>	15,3

5.2.2. pH awal beberapa media alami cair

Nilai pH masing-masing media cair alami yang digunakan sebelum fermentasi adalah seperti pada Tabel 2. berikut:

Tabel 2 : Nilai pH awal masing-masing media alami cair yang digunakan

No.	Media	pH
1	Nira Aren	8,60
2	Air Tebu	5,47
3	Air Kelapa	5,00
4	Susu Skim	6,49
5	Susu Sapi	6,50
6	Susu Kedelai	6,45
7	Susu Kedelai + 10% Gula	6,42

5.2.3. Perkembangan populasi awal bakteri laktat dalam berbagai media alami

Kesesuaian masing-masing bakteri dalam media alami cair dapat dilihat perkembangan nilai pH media dan peningkatan jumlah populasinya. Namun respon awal suatu bakteri terhadap media lingkungannya secara visual dapat dilihat dari kekeruhan media setelah 3 hari inokulasi starter seperti yang terlihat dalam Tabel 3. berikut.

Tabel 3 : Tingkat kekeruhan media alami setelah 3 hari inokulasi bakteri-bakteri laktat

No.	Media	Bakteri						
		<i>L.a</i>	<i>L.c</i>	<i>L.p</i>	<i>S.l</i>	<i>S.t</i>	<i>L.m</i>	<i>P.a</i>
1	Nira Aren	+	-	+	++	-	-	+++
2	Air Tebu	+++	+	+++	+++	++	++	+++
3	Air Kelapa	+++	++	++	+++	++	++	+++
4	Susu Skim	+++	+	+++	+++	++	++	+++
5	Susu Sapi	+++	-	-	-	+++	+++	-
6	Susu Kedelai	+++	+	+++	++	++	-	++
7	Susu Kedelai + 10% Gula	++	+	+++	+++	+	++	++

Keterangan : *L.a*=*Lactobacillus acidophilus* *L.c*=*Lactobacillus casei* *L.p*=*Lactobacillus plantarum*
S.l=*Streptococcus lactis* *S.t*=*Streptococcus thermophilus* *L.m*=*Leuconostoc mesenteroides* *P.a*=*Pediococcus acidilactisi*

5.2.4. Perkembangan nilai pH berbagai media alami

Keunikan masing-masing mikroba jelas terlihat dari penurunan nilai keasaman media yang diamati tiap minggu sampai terjadi penurunan yang stabil seperti terdapat dalam Tabel 4.

Tabel 4 : Rata-rata perkembangan nilai pH berbagai media alami cair hasil fermentasi bakteri-bakteri asam laktat

No.	Media	pH	Bakteri						
			<i>L.a</i>	<i>L.c</i>	<i>L.p</i>	<i>S.l</i>	<i>S.t</i>	<i>L.m</i>	<i>P.a</i>
	Nira Aren	Awal	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6
		Minggu I	3,91	5,42	4,07	4,02	4,16	4,52	6,15
		Minggu II	3,72	5,44	3,84	3,8	3,94	4,41	5,14
		Minggu III	3,64	5,44	3,78	3,74	3,83	4,35	4,15
	Air Tebu	Awal	5,47	5,47	5,47	5,47	5,47	5,47	5,47
		Minggu I	3,55	5,3	3,63	3,48	4,03	4,21	3,88
		Minggu II	3,42	5,33	3,42	3,43	3,63	4,18	3,79
		Minggu III	3,17	4,78	3,28	3,33	3,74	3,63	3,49
	Air Kelapa	Awal	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
		Minggu I	3,34	4,85	3,39	3,36	3,97	4,27	3,57
		Minggu II	3,28	4,76	3,32	3,31	3,82	3,97	3,51
		Minggu III	3,17	4,78	3,28	3,33	3,74	3,63	3,49
	Susu Skim	Awal	6,49	6,49	6,49	6,49	6,49	6,49	6,49
		Minggu I	3,86	4,97	4,27	4,44	3,91	4,22	4,37
		Minggu II	3,71	4,89	4,01	4,2	3,79	4,17	4,15
		Minggu III	3,60	4,22	3,93	4,11	3,68	4,09	4,07
	Susu Sapi	Awal	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
		Minggu I	4,3	6,3	4,5	4,44	3,99	4,6	4,94
		Minggu II	4,02	6,29	4,28	4,11	3,77	4,38	4,44
		Minggu III	4,07	6,31	4,14	3,99	3,69	4,34	4,28
	Susu Kedelai	Awal	6,45	6,45	6,45	6,45	6,45	-	6,45
		Minggu I	3,95	5,4	3,93	4,23	4,23	-	4,14
		Minggu II	3,78	5,66	3,8	4,10	4,17	-	4,26
		Minggu III	3,76	4,63	3,81	4,02	4,16	-	4,17
	Susu Kedelai +10% Gula	Awal	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42
		Minggu I	4,0	4,82	3,73	3,87	4,76	4,31	4,15
		Minggu II	3,79	4,69	3,65	3,68	4,56	4,25	3,96

Keterangan : *L.a*=*Lactobacillus acidophilus* *L.c*=*Lactobacillus casei* *L.p*=*Lactobacillus plantarum*
S.l=*Streptococcus lactis* *S.t*=*Streptococcus thermophilus* *L.m*=*Leuconostoc mesenteroides* *P.a*=*Pediococcus acidilactisi*.

Walaupun dari Tabel 4. di atas sudah terlihat dari masing-masing jenis bakteri, namun belum cukup data untuk membahasnya lebih lanjut karena pengamatan masih berlanjut, yang diharapkan akan dapat ditambahkan pembahasannya pada laporan selanjutnya, namun kurva perkembangan nilai pH sementara dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Lampiran.

5.2.5. Perkembangan populasi bakteri-bakteri laktat dalam media alami

Perkembangan populasi sebagaimana juga kajian fisiologisnya yang lain dari bakteri-bakteri asam laktat pada media alami masih dalam pengamatan

5.3. Populasi dan pH dalam media gula

5.3.1. Populasi awal bakteri-bakteri laktat perlakuan media gula

Tabel 5 : Populasi awal masing-masing bakteri asam laktat ($\times 10^5$ cfu/ml)

No.	Bakteri	Populasi
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	232
2	<i>Lactobacillus casei</i>	4,6
3	<i>Lactobacillus plantarum</i>	202
4	<i>Streptococcus lactis</i>	4,8
5	<i>Streptococcus thermophilus</i>	4,5
6	<i>Leuconostoc mesentroides</i>	272
7	<i>Pediococcus acidilactisi</i>	30,5

5.3.2. pH awal beberapa media gula

Tabel 6 : Nilai pH awal masing-masing media alami cair yang digunakan

No.	Media	pH
1	Laktosa	4,79
2	Fruktosa	3,49
3	Glukosa	6,2
4	Gula pasir	6,07

5.3.3. Perkembangan nilai pH berbagai media gula

Kcunikan masing-masing mikroba jelas terlihat dari penurunan nilai keasaman media yang diamati setelah satu minggu. Pengamatan masih dilakukan setiap minggu sampai terlihat

nilai pH yang stabil. Hasil pengamatan terhadap nilai pH dari media gula sementara dapat dilihat pada Tabel 5. seperti terdapat dalam Tabel .

Tabel 7 : Nilai pH berbagai media gula setelah diinokulasi dengan bakteri-bakteri asam laktat

No.	Media	pH	Bakteri						
			<i>L.a</i>	<i>L.c</i>	<i>L.p</i>	<i>S.l</i>	<i>S.t</i>	<i>L.m</i>	<i>P.a</i>
1	Laktosa	Awal	4,79	4,79	4,79	4,79	4,79	4,79	4,79
		Minggu I	3,89	3,79	3,7	3,78	4,7	4,8	4,33
		Minggu II							
		Minggu III							
2	Fruktosa	Awal	3,49	3,49	3,49	3,49	3,49	3,49	3,49
		Minggu I	3,72	3,7	3,72	3,68	3,73	3,77	3,75
		Minggu II							
3	Glukosa	Awal	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
		Minggu I	4,16	3,54	4,27	4,2	4,46	4,42	4,3
		Minggu II							
		Minggu III							
4	Gula pasir	Awal	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07	6,07
		Minggu I	3,54	3,5	3,54	3,49	4,2	4,57	3,86
		Minggu II							
		Minggu III							

Keterangan : *L.a*=*Lactobacillus acidophilus* *L.c*=*Lactobacillus casei* *L.p*=*Lactobacillus plantarum* *S.l*=*Streptococcus lactis* *S.t*=*Streptococcus thermophilus* *L.m*=*Leuconostoc mesentroides* *P.a*=*Pediococcus acidilactisi*.

5.3.4. Perkembangan populasi bakteri-bakteri laktat dalam media gula

Perkembangan populasi bakteri-bakteri laktat dalam media gula sama halnya dengan pada media alami masih dalam pengamatan (Pengamatan masih berlangsung)

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil sementara penelitian tentang "Kajian Fisiologis dan Perkembangan Bakteri-Bakteri Asam Laktat pada Beberapa Medium Cair Dalam Pengadaan Bank Mikroba" dari ditarik kesimpulan sementara sebagai berikut:

- ❖ Bakteri-bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik pada media-media alami air tebu, air kelapa, nira aren, susu sapi, susu skim dan susu kedelai
- ❖ *Streptococcus lactis* tumbuh dengan baik pada semua media alami yang dicobakan
- ❖ Air Tebu disukai oleh semua jenis bakteri dan dapat digunakan sebagai media perbanyakan dari bakteri-bakteri laktat

DAFTAR PUSTAKA

- Czermak, P. (Edt). 1993. Lebensmittelbiotechnologie, Git Verlag.
- Demeter, K. J. 1967. Bakteriologische Untersuchungsmethoden der Milchwirtschaft. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart
- Donhauser R. M., 1997. Quark, Butter, Joghurt. Kaese hausgemacht, Ludwig Verlag. München
- Dittrich, H. 1970. Schimmelpilzen, Hefen und Bakterien, Kosmos, Stuttgart
- Fardiaz, S. 1988. Fisiologi Fermentasi. Lembaga Sumberdaya Informasi-IPB. Bogor
- Jähig A., W. Schade. 1993. Mikrobiologie der gaerungs und getränkeindustrie. Cena Verlag. Meckenheim
- Schmitt, A. 1983. Aktuelle Weinanalytik. Heller Chemie- und Verwaltungsgesseschaft mbH. Scheinfeld.
- Sudiati, S. 1993. Penggunaan mikroorganisme *Hansenula anomala* dan *Candida utilis* dalam produksi komponen cita rasa. Skripsi Fateta-IPB-Bogor