

UJI EFEK HASIL FERMENTASI ISOLAT  
*LACTOBACILLUS* sp DARI KOL TERHADAP WAKTU  
PENYIMPANAN TAHU



HARNI SARTIKA  
N 111 03 399



PERDUSTAWAN	UNIVERSITAS HASANUDDIN
Tgl. Tes	10 - 12 - 08
Aspek	formasi
Sampel	1 kg
Waktu	12 jam
Temp. Simpan	36

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008

**UJI EFEK HASIL FERMENTASI ISOLAT *LACTOBACILLUS sp* DARI KOL  
TERHADAP WAKTU PENYIMPANAN TAHU**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**HARNI SARTIKA  
N 111 03 399**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008**

**UJI EFEK HASIL FERMENTASI ISOLAT *LACTOBACILLUS sp*  
DARI KOL TERHADAP WAKTU PENYIMPANAN TAHU**

**HARNI SARTIKA**

**N 111 03 399**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**



**Dra. Sartini, M.Si, Apt.  
Nip. 131 696 792**

**Pembimbing Pertama,**



**Dr. H. Faizal Attamimi, MS  
Nip. 130 355 392**

**Pembimbing Kedua,**

**Herlina Rante, S.Si, M.Si, Apt  
Nip. 132 301 322**

**Pada Tanggal 18 Desember 2008**

## ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian efek hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol terhadap waktu penyimpanan tahu yang disimpan pada suhu kamar (30°C) dan suhu dingin (10°C) selama 12 hari. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* terhadap waktu penyimpanan tahu. Pengujian efek hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dilakukan dengan merendam tahu pada supernatan dengan variasi waktu yang berbeda yaitu 30 menit, 1 jam, 2 jam dan direndam dengan aquadest (negatif). Koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan metode "Standart Plate Count" dengan menggunakan medium Natrium Agar. Hasil analisis statistika dengan menggunakan rancangan faktorial menunjukkan adanya pengaruh antara lama perendaman terhadap lama penyimpanan tahu. Uji penampakan lendir dan bau, kontrol pada suhu dingin dan suhu kamar sangat signifikan dengan perendaman 30 menit, 1 jam dan 2 jam. Kesimpulan penelitian ini adalah lama perendaman pada hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol sangat berpengaruh pada penampakan bau dan lendir serta jumlah bakteri dalam tahu.

Kata kunci : Hasil fermentasi, *Lactobacillus sp*, Lama perendaman, Tahu

## ABSTRACT

The effect of isolated fermented product of cabbage's *Lactobacillus sp* toward the storage period, that was kept at room temperature ( 30°C) and cold temperature(10°C) has been tested for 12 days. The aim of the test is to find out the influence of the isolated *Lactobacillus sp* fermented product toward the tofu's storage period. The test was done by soaking the tofu in supernatant within different variations of time 30 minutes, an hours, two hours and with aquadest (negative). The bacteria colony growth was counted using "Standart Plate Count" method in Natrium Agar as the medium. The statistical analysis result by using factorial design showed a very significant influence of how long the soaking done to the tofu storage period. The mucus and smell appearance test within 30 minutes, an hour and two hours soaking was significant in cold temperature and room temperature. Finally, it's concluded that the soaking time length of *Lactobacillus sp* isolated fermented product is very influent to the mucus and smell appearance, and total bacteria growth in the tofu.

Key words : Fermented product, *Lactobacillus sp*, Soaking time length,  
Tofu

## UCAPAN TERIMA KASIH



Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah swt, Tuhan Yang Maha Mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu Dra. Sartini, M.Si., Apt selaku pembimbing utama, Bapak Dr. H. Faizal Attamimi., MS. selaku pembimbing pertama dan Ibu Herlina Rante S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing kedua atas segala bimbingan, petunjuk dan saran-saran sejak dimulainya penelitian hingga pada penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Dra. Aliyah Putranto, MS, Apt. selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk selama mengikuti pendidikan strata satu.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Teristimewa kepada kedua orang tuaku, Bapak Drs.H.Hamzah Kamaruddin, MM dan Ibu Hj.Suhartini serta semua kakak-kakakku (Hamka K,ST.

Sulviawanty, Hamriawan, S.Com. dr. A. Umnawati, adikku Muh. Yasin dan Keponakanku tersayang Niswah Alifah yang selalu memberi semangat, perhatian, kasih sayang dari segi manapun. Tiada kata yang pantas atas semua perhatian dan kasih sayangnya selain balasan sayang dan terima kasih penulis haturkan.

Terkhusus lagi buat Kandaku Haslia dan Dewi Kubah yang telah membantu kelancaran penelitian di Laboratorium Mikrobiologi dengan penuh kesabaran dari awal hingga akhir dan kepada sahabat-sahabatku, Utami, Rahayu, Umrah, Hajrah, Fitriani.R. Buat teman-temanku, Nely, Febrianti, Vidha, Daryam, Endang. serta warga M/14, Kak Icci, Rahma, Dina dan seluruh angkatan 2003 serta pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan sehingga masih banyak terdapat kesalahan, namun penulis berharap semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin....

Makassar, November 2008

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iii
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Bakteri Asam Laktat.....	4
II.1.1 Uraian Umum Bakteri Asam Laktat.....	4
II.1.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat.....	6
II.1.3 Kegunaan Bakteri Asam Laktat.....	10
II.1.4 Produk Antimikroba Bakteri Asam Laktat.....	10
II.2 Fermentasi.....	15
II.3 Pengawet Makanan.....	16
II.4 Uraian Umum Antimikroba .....	16
II.5 Mekanisme Kerja Antimikroba .....	18
II.5.1 Penghambatan Metabolisme Sel Mikroba .....	18



II.5.2	Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel Mikroba .....	19
II.5.3	Penghambatan Terhadap Keutuhan Membran Sel Mikroba .....	19
II.5.4	Penghambatan Terhadap Sintesis Protein Sel Mikroba .....	19
II.5.5	Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba .....	20
II.6	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba .....	20
II.6	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kemampuan Suatu Senyawa Antimikroba Untuk Menghambat Aktivitas Pertumbuhan Mikroba Dalam Sistem Pangan.....	24
II.7	Metode "Standart Plate Count" .....	26
<b>BAB III</b>	<b>PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>30</b>
III.1	Alat dan Bahan.....	30
III.2	Metode Kerja.....	30
III.2.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	30
III.3	Pembuatan Medium.....	31
III.3.1	Pembuatan Medium MRSB.....	31
III.3.2	Pembuatan Medium NA.....	31
III.3.3	Pembuatan Jus Tomat.....	31
III.4	Penyiapan Sampel .....	32
III.4.1	Peremajaan <i>Lactobacillus sp.</i> .....	32
III.4.2	Penyiapan Inokulum .....	32
III.4.3	Pembuatan Tahu .....	32
III.5	Pengujian Efek Larutan Terhadap produk Tahu .....	33
III.5.1	Uji bau dan lendir Pada Tahu .....	34
III.5.2	Analisis Total Bakteri .....	34

III.6	Pengamatan .....	35
III.7	Pengumpulan dan Analisa Data .....	35
III.8	Pembahasan Hasil .....	35
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	36
IV.1	Hasil Penelitian .....	36
IV.1.1	Hasil Pengujian Lendir dan Bau Tahu Pada Suhu Kamar dan Suhu Dingin .....	36
IV.1.1	Jumlah Bakteri Dalam Tahu .....	38
IV.2	Pembahasan .....	38
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
V.1	Kesimpulan .....	43
V.2	Pembahasan .....	43
DAFTAR PUSTAKA	.....	44

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penggolongan Bakteri Menurut Suhu.....	22
2. Hasil Uji Bau Pada Tahu .....	36
3. Hasil Uji Lendir Pada Tahu .....	37
4. Jumlah Bakteri dalam Tahu.....	38
5. Perhitungan Statistik Jumlah Bakteri dalam Produk Tahu.....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Kurva Pertumbuhan Isolat Murni <i>Lactobacillus sp.</i> dari Kol ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata L).....	14
2. Foto Isolat Murni <i>Lactobacillus sp.</i> dari Kol ( <i>Brassica oleracea</i> var. capitata L).....	59
3. Foto Penampakan Organoleptik pada Produk Tahu yang telah di rendam dengan Larutan Uji dan kontrol.....	60
4. Foto Penampakan Organoleptik pada Produk Tahu yang telah direndam dengan Larutan Uji dan kontrol.....	61
5. Foto Penampakan Organoleptik pada Produk Tahu yang telah di rendam dengan Larutan Uji dan kontrol.....	61
6. Foto Penampakan Koloni Produk Tahu pada Medium NA.....	62
7. Foto Penampakan Koloni Larutan Uji pada Medium NA.....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Jumlah Bakteri Dalam Tahu yang Disimpan Pada Suhu Kamar (30°C) .....	47
2. Perhitungan Jumlah Bakteri dalam Tahu yang Disimpan Pada Suhu Dingin (10°C) .....	47
3. Contoh Perhitungan Jumlah Bakteri Dalam Tahu.....	50
4. Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji.....	56
5. Skema Kerja Pembuatan Tahu.....	57
6. Skema Kerja Pengujian Efek Larutan Uji Terhadap Tahu.....	58

## BAB I

### PENDAHULUAN

Tahu merupakan salah satu makanan yang menyehatkan karena kandungan protein tahu cukup tinggi (12,9 gram untuk setiap 100 gram bahan). Tahu mencerminkan banyaknya protein yang dapat dimanfaatkan tubuh, yaitu sekitar 65%, di samping mempunyai daya cerna tinggi sekitar 85–95% (1,2). Selain memiliki kelebihan, tahu juga mempunyai kelemahan, yaitu kandungan air yang tinggi sehingga mudah rusak (1,3). Bahan pangan dengan kandungan air yang tinggi dapat ditumbuhi oleh semua jenis mikroba lebih cepat, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak untuk dikonsumsi (2).

Untuk memperpanjang masa simpan, kebanyakan industri tahu yang ada di Indonesia menambahkan pengawet. Bahan pengawet yang ditambahkan tidak terbatas pada pengawet yang diizinkan, tetapi kadang-kadang ada beberapa pengrajin tahu yang menggunakan bahan pengawet berbahaya untuk mengawetkan tahu seperti formalin (3).

Penggunaan formalin sebagai pengawet sangat tidak boleh. Banyak jenis pengawet yang aman dan dapat digunakan dalam produksi tahu. Salah satunya adalah penggunaan Bakteriosin yaitu metabolit dari hasil fermentasi bakteri asam laktat (4,5). Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat merupakan bahan pengawet potensial yang mempunyai kemampuan untuk

mengontrol bakteri pencemar yang bersifat patogen pada produk pangan (2,6,7). Aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat dikarenakan oleh produksi berbagai jenis metabolit yang bersifat antibakteri, senyawa metabolit sekunder yaitu bakteriosin. Senyawa ini dihasilkan pada fase logaritma, namun dihasilkan dalam jumlah besar setelah mencapai fase stasioner yaitu rata-rata setelah masa inkubasi 24 jam (4,7,8). Penggunaan bahan ini memiliki potensi sebagai pengawet alami (Biopreservasi) untuk menggantikan pengawet kimia pada makanan (2,4,5). Penggunaan bahan pengawet alami lebih aman dibanding bahan pengawet yang pada dasarnya senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerugian baik yang bersifat langsung maupun tidak langsung pada pemakainya (9,10)

Beberapa penelitian ilmiah tentang Bakteri Asam Laktat yang telah dilaporkan diantaranya bakteri asam laktat telah diisolasi dari padi, produk susu dan daging, sayur-sayuran yang telah difermentasi (11). A. Wiwiek SA telah berhasil mengisolasi bakteri asam laktat yang diperoleh dari *Lactobacillus sp.* kol (*Brassica oleracea L. Var Capitata*) dan uji pemanfaatannya sebagai antimikroba, yang memberikan hasil bahwa hasil fermentasi bakteri asam laktat mempunyai aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* (12). A. Asrianti telah membuktikan bahwa metabolit *Lactobacillus sp* isolat dari kol (*Brassica oleracea L. var. capitata*) memiliki aktivitas antibakteri dan memberikan efek anti bakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia*

*coli* dan *Salmonella thyposa* merupakan bakteri yang sering mengkontaminasi makanan (13). Namun permasalahan yang timbul adalah apakah metabolit hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol berpengaruh terhadap waktu penyimpanan tahu?

Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan penelitian uji efek hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol terhadap waktu penyimpanan tahu, tahu diukur berdasarkan uji organoleptik bau dan lendir serta jumlah total bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* terhadap waktu penyimpanan tahu.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Bakteri Asam Laktat**

##### **II.1.1 Uraian Umum Bakteri Asam Laktat**

Pada umumnya bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri pembentuk asam laktat, baik sebagai satu-satunya produk utama pada metabolisme karbohidrat dan tumbuh pada pH lingkungan yang rendah(4,5,10). Bakteri asam laktat banyak diisolasi dari makanan hasil fermentasi (10). Bakteri asam laktat banyak ditemukan pada bahan pangan, diantaranya pada fermentasi sayuran dan buah-buahan serta produk daging, adonan asam, silase, pada tanaman, saluran pembuangan, rongga mulut, jalur genital, jalur intestinal maupun saluran pernapasan pada manusia dan hewan (5,11). Salah satu habitat tumbuh bakteri asam laktat yaitu pada daun kol (12).

Bakteri asam laktat mempunyai kesanggupan untuk mengkonversi karbohidrat menjadi asam laktat, asam asetat, alkohol dan karbon dioksida yang sangat penting sebagai pengawet yang mempunyai mutu nutrisi dalam pangan, sebagai agen penghasil senyawa antibakteri, agen probiotik dalam bidang kesehatan yang dapat menurunkan kolesterol, menghambat tumor/karsinogenik, dan menstimulir sistem imun. Metabolit yang dihasilkan dapat digunakan sebagai pengawet dan pengaroma dalam industri makanan

dan susu, sebagai pelarut dalam industri tekstil, kosmetik, dan elektronik, sebagai bahan baku plastik ramah lingkungan.(5,6,7). Dalam konversi karbohidrat, bakteri asam laktat hanya memerlukan sedikit kalori, sehingga sering disebut kelompok bakteri yang tidak efisien dalam mempergunakan sumber energi (8).

Bakteri asam laktat masuk dalam kelompok bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang dan pada umumnya tidak memiliki katalase, meskipun kadang-kadang ditemukan pseudo-katalase, tidak mempunyai sitokrom, aerotoleran, anaerobik hingga mikroaerofilik, membutuhkan nutrisi yang kompleks,oleh karena itu umumnya habitatnya kaya akan nutrisi (7).Secara umum pertumbuhan bakteri asam laktat membutuhkan riboflavin dan biotin untuk pengikatan CO<sub>2</sub> dalam mensintesis asam aspartat dan asam lemak. Kemampuan biosintesisnya sangat terbatas dan perolehan energinya sangat terbatas hanya bergantung pada metabolisme secara fermentatif (8).

Peranan bakteri asam laktat pada bahan pangan lebih banyak menguntungkan daripada merugikan, bakteri asam laktat yang telah digunakan secara luas pada processing makanan, seperti produk-produk susu, minuman dan daging. Salah satu manfaat bakteri bakteri asam laktat yang paling penting adalah menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk atau patogenik pada makanan. Beberapa bakteri asam laktat telah diketahui

dapat menghasilkan bakteriosin, yaitu peptida atau protein bakterisida yang aktif secara biologis. Senyawa antimikroba atau bakteriosin telah banyak dimanfaatkan sifat antagonistiknya dalam bidang biopreservatif pada pangan, kemampuannya dalam bakteri Gram positif atau Gram negatif dan sebagai terapeutik. Beberapa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen yang terdapat pada makanan (2,4,7).

### **II.1.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat (17)**

Proses metabolisme mencakup semua reaksi kimia dan biologi yang terjadi dalam sel mikroba. Metabolisme mikroba terdiri dari dua proses yaitu proses katabolisme dimana terjadi pembentukan energi, dan yang kedua adalah proses anabolisme dimana dibutuhkan energi. Oleh karena itu, di dalam sel terjadi dua proses utama yaitu produksi energi dari berbagai substrat yang tersedia dan pembentukan intermediet yang dibutuhkan untuk produksi biokimia dan komponen sel lainnya.

Secara fisiologis dan berdasarkan aktivitas metabolisme, bakteri asam laktat dikelompokkan kedalam dua subgrup, yaitu Homofermentatif dan Heterofermentatif. Bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif mampu mengubah glukosa membentuk 85% asam laktat sedangkan yang bersifat heterofermentatif menghasilkan campuran produk fermentasi dengan 50%

asam laktat dan produk lainnya yaitu etanol, asam asetat, asam format, asam suksinat, gliserol, dan gas CO<sub>2</sub> (10,14).

Aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat dikarenakan oleh produksi berbagai jenis metabolit yang bersifat antibakteri, baik berupa senyawa metabolit primer, yaitu asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, juga senyawa metabolit sekunder yaitu bakteriosin. Senyawa ini dihasilkan pada fase logaritma, namun dihasilkan dalam jumlah besar setelah mencapai fase stasioner yaitu rata-rata setelah masa inkubasi 24 jam (4,5,7), dimana bakteriosin adalah nisin yang merupakan peptida antimikrobia yang tahan panas dan termasuk ke dalam kelas pertama bakteriosin. Nisin diterapkan sebagai bahan tambahan makanan dalam industri makanan. Nisin biasa ditambahkan pada pembuatan keju, pasteurisasi produk-produk dairy dan makanan kaleng untuk mencegah pertumbuhan spora *Clostridium*. Sebagai kecenderungan baru dalam teknologi pangan, ini menjadi sesuatu yang menarik untuk memperluas penggunaan antimikrobia alami sebagai bakteriosin terhadap mikroorganisme resisten. Nisin ini banyak digunakan sebagai antibakteri terutama pada bakteri yang sering mengkontaminasi makanan seperti *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhosa* (14).

Waktu inkubasi sangat mempengaruhi metabolit yang dihasilkan oleh mikroba. Dimana metabolit yang dihasilkan dapat berupa metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme yang

tidak merupakan kebutuhan pokok sel mikroba untuk hidup dan tumbuh. Metabolit primer sangat diperlukan oleh sel untuk tumbuh, sedangkan metabolit sekunder mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

1. Setiap metabolit sekunder adalah spesifik untuk satu atau beberapa spesies.
2. Produksi metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan
3. Beberapa spesies mungkin memproduksi beberapa macam metabolit sekunder, sedangkan lainnya mungkin hanya memproduksi satu atau dua macam metabolit sekunder.
4. Banyak metabolit sekunder yang diproduksi sebagai suatu grup dengan struktur hampir sama, dimana komposisinya dipengaruhi oleh medium dan kondisi pertumbuhan.
5. Produksi metabolit sekunder dikontrol oleh mekanisme yang berbeda dengan kontrol dalam metabolit primer.

Salah satu ciri dari metabolit sekunder yaitu komponen tersebut tidak diproduksi pada waktu pertumbuhan sel secara cepat, tetapi dibentuk pada akhir masa pertumbuhan. Produksi metabolit sekunder mungkin mempengaruhi pertumbuhan sel yang memproduksinya. Kemampuan mikroba untuk memproduksi metabolit sekunder mudah hilang karena mutasi.

Fungsi metabolit sekunder di dalam metabolit sekunder yaitu komponen belum diketahui. Beberapa hipotesa mengenai fungsi metabolit sekunder di dalam sel;

1. Metabolit sekunder merupakan penyimpanan dari metabolisme primer
2. Metabolit sekunder merupakan hasil buangan akhir yang tidak mempunyai fungsi dalam proses biokimia.
3. Metabolit sekunder merupakan metabolit yang mempunyai fungsi penting pada tahap awalnya, tetapi kehilangan fungsinya karena evolusi.
4. Metabolit sekunder merupakan produk dari mekanisme detoksifikasi terhambat.
5. Metabolit sekunder merupakan akibat dari regulasi (pengontrolan) yang lemah dalam metabolisme primer.

Tahap-tahap dalam biosintesa metabolit sekunder adalah sebagai berikut:

1. Penyerapan nutrisi ke dalam sel.
2. Pemecahan nutrisi menjadi intermediat melalui jalur metabolisme primer (glikolisis dan sebagai).
3. Biosintesa molekul-molekul kecil yang merupakan prekursor dari metabolit sekunder.
4. Modifikasi intermediat tersebut bila perlu.
5. Masuknya prekursor ke dalam jalur biosintesa metabolit sekunder.
6. Modifikasi akhir setelah struktur utama terbentuk.

### **II.1.3 Kegunaan Bakteri Asam Laktat**

Bakteri asam laktat telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang yaitu sebagai agen penghasil senyawa antimikroba, sebagai agen probiotik dalam bidang kesehatan dimana dapat menurunkan kolesterol, menghambat tumor/karsinogenik, dan menstimulir sistem imun. Metabolit yang dihasilkan dapat digunakan sebagai pengawet dan pengaroma dalam industri makanan dan susu (6,7,11).

Bakteri asam laktat pada bahan pangan keuntungannya lebih besar dibanding kerugiannya. Bakteri asam laktat yang aktif dalam fermentasi makanan akan memberikan daya simpan produk yang lebih lama dibandingkan dengan bahan dasarnya (2). Selain itu, dapat menambah cita rasa dan aroma pada makanan dan pada waktu yang sama pertumbuhan bakteri yang merugikan dapat dicegah (15).

### **II.1.4 Produk Antimikroba Bakteri Asam Laktat**

Berbagai jenis metabolit yang bersifat antimikroba dihasilkan oleh bakteri asam laktat, baik berupa senyawa metabolit primer, yaitu asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, juga senyawa metabolit sekunder yaitu bakteriosin (7,11,19) :

#### **1. Asam-asam organik**

Dalam proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas yaitu terakumulasinya asam organik dan menurunnya nilai pH. Efek antimikroba dari asam organik akibat



turunnya nilai pH mengakibatkan asidifikasi dari sel sitoplasma dan juga bentuk tidak terdisosiasi dari molekul asam organik menjadi lipofilik sehingga dapat berdifusi ke dalam membran sel, kemudian melumpuhkan elektrokimia proton gradien atau dengan mudah mengubah permeabilitas membran sel yang akan mengganggu sistem transpor substrat.

## **2. Hidrogen peroksida**

Hidrogen peroksida dihasilkan oleh NADH oksidase dan superoksidase dismutase, dimana oksigen berperan sebagai elektron akseptor eksternal, dan NADH oksidase dimiliki oleh hampir semua bakteri asam laktat. Efek bakterisidal senyawa hidrogen peroksida adalah karena terjadinya oksidasi pada sel bakteri, yaitu gugus sulfhidril dari protein sel sehingga mendenaturasi sejumlah enzim dan terjadinya peroksidasi dan lipid membran meningkatkan permeabilitas membran. Hidrogen peroksida juga dapat bertindak sebagai prekursor bagi pembentukan radikal bebas yang bersifat bakterisidal yang dapat merusak DNA. Disamping itu reaksi pembentukan  $H_2O_2$  akan mengikat oksigen sehingga membentuk suasana anaerob bagi bakteri aerob.

## **3. Komponen Aroma (diasetil)**

Senyawa diasetil dihasilkan oleh semua genus bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan sitrat, dan senyawa asetil ini memberi aroma mentega dan mempunyai efek antimikroba. Spesies bakteri



asam laktat yang menghasilkan komponen diasetil antara lain:

*Lactobacillus* sp, *Leuconostoc* sp, *Pediococcus* sp, dan *Streptococcus*

sp.

#### 4. Bakteriosin

Beberapa bakteri asam laktat dalam proses pertumbuhannya menghasilkan metabolit sekunder, bakteriosin, berupa senyawa peptida yang disintesis di ribosom dan bersifat sebagai antimikroba. Senyawa ini dihasilkan pada fase logaritma, namun dihasilkan dalam jumlah besar setelah mencapai fase stasioner yaitu rata-rata setelah masa inkubasi 24 jam.

Tagg dkk (1976) mengemukakan bahwa kriteria bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri gram positif, bakteri asam laktat, yaitu suatu jenis protein, bersifat bakterisidal, mencegah pertumbuhan bakteri sejenis, dan mempunyai tempat perlekatan spesifik bagi bakteri patogen, yang membedakan dengan senyawa antimikroba lainnya.

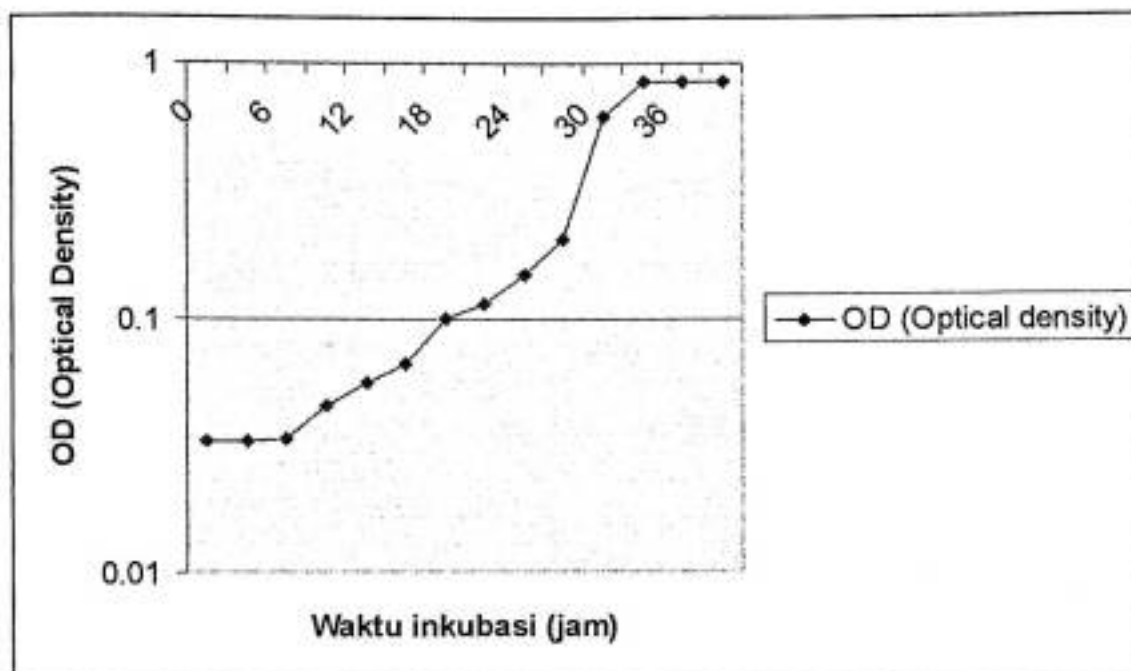
Strain bakteri asam laktat yang menghasilkan bakteriosin antara lain: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, dan *Enterococcus*.

Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat merupakan bahan pengawet potensial yang mempunyai kemampuan untuk mengontrol bakteri pencemar dan yang bersifat patogen pada produk pangan.

Bakteriosin saat ini dikelompokkan menjadi empat kelas, yaitu:

- a. Kelas I, antibiotik yang merupakan peptida rantai pendek, misalnya nisin, mempunyai 34 asam amino yang sangat aktif terhadap bakteri gram positif.
- b. Kelas II, bakteriosin yang mengandung senyawa lantionin, merupakan peptida dengan berat atom rendah yang tahan panas mempunyai asam amino 36-44. Seperti: lactococcin, pediocin, lactacin, dan leuċocin A.
- c. Kelas III, senyawa protein berbobot molekul tinggi (30 kDa), tidak tahan panas. Seperti: helveticin, dihasilkan oleh *L. Helveticus*, Lacticin B (*L. Acidophilus*)
- d. Kelas IV, merupakan kompleks bakteriosin yang mengandung protein dengan lipid dan atau karbohidrat.

Metabolit *Lactobacillus* sp yang bersifat antibakteri berupa senyawa metabolit sekunder yaitu bakteriosin akan semakin jelas oleh diameter daya hambat yang ditunjukkan. Hal ini dapat dilihat pada grafik kurva pertumbuhan isolat murni *Lactobacillus* sp. dari kol (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), dimana metabolit bakteriosin akan terakumulasi dalam jumlah yang semakin besar sejalan dengan pertumbuhan bakteri yang menuju ke fase kematian (9,15).



Gambar 1. Grafik kurva pertumbuhan isolat murni *Lactobacillus* sp. dari kol (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)

### KARAKTERISTIK UMUM DARI BAKTERIOSIN

Bakteriosin adalah suatu produk heterogen dari kelompok bakteri antagonis yang bervariasi berdasarkan bobot molekul, yang mekanisme biokimianya sangat kompleks yang merupakan anti bakteri dengan mekanisme kerja yang sangat sensitif (Klaenhammer, 1988). Bakteriosin aktif melawan berbagai macam bakteri patogen yang dapat mengganggu kelangsungan atau keseimbangan hidup bakteri penghasil dengan spektrum yang sangat kecil, terutama bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat, metabolit sekunder yang diproduksi oleh kelompok Bakteri Asam Laktat sebagai protein ekstraseluler (Upreti and Hindsdill, 1976)

## **MEKANISME AKTIVITAS BAKTERIOSIN**

Mekanisme aktivitas antimikroba dari bakteriosin belum dapat diketahui secara detail. Aktivitas antimikroba membran sitoplasma menjadi target utama, sebab pengawetan dengan bakteriosin menyebabkan asam amino dan kation nonspesifik keluar sehingga mengakibatkan pecahnya dinding sel dan kematian bakteri sasaran (Delves, 1990; Gao et al, 1991). Komposisi fosfolipid dari dinding sel mungkin berpengaruh pada efektivitas antimikroba bakteriosin. Hasil kombinasi yang diperoleh di dalam sel, yaitu gelembung dan liposome merupakan aktivitas khusus.

### **II.2 Fermentasi (15)**

Fermentasi merupakan salah satu bagian dari bioteknologi yang menggunakan mikroorganisme sebagai pemeran utama dalam suatu proses. Fermentasi adalah proses perombakan seluruh senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme yang melibatkan enzim yang dihasilkannya.

Industri fermentasi di negara-negara maju sudah berkembang sedemikian pesatnya, termasuk dalam produksi hasil-hasil pemecahan atau metabolit primer oleh mikroba (asam, asam amino, alkohol), hasil metabolit sekunder (antibiotik, tosin), produksi massa sel (protein sel tunggal), enzim, dan sebagainya.

### **II.3 Pengawet Makanan (2,5,9)**

Pengawet makanan yang dimaksudkan adalah bahan yang ditambahkan pada makanan untuk mencegah atau menghambat terjadinya kerusakan atau pembusukan makanan. Penggunaan pengawet terutama dilakukan oleh perusahaan yang memproduksi makanan mudah rusak. Dengan pemberian bahan pengawet tersebut, diharapkan makanan tetap terpelihara kesegarannya. Selain juga mencegah terjadinya kerusakan bahan makanan.

Bahan Kimia digunakan sebagai barrier tambahan untuk membatasi kemampuan tumbuh mikroorganisme dalam makanan. Tetapi, tuntutan konsumen telah mendorong para peneliti untuk mengembangkan penggunaan penghambat alami yang bersumber dari tanaman, hewan dan mikroba. Sebagai kecenderungan baru dalam teknologi pangan, ini menjadi sesuatu yang menarik untuk memperluas penggunaan antimikrobia alami sebagai bakteriosin terhadap mikroorganisme resisten.

### **II.4 Uraian Umum Antimikroba**

Antimikroba ialah zat-zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme, dan zat tersebut dalam jumlah sedikit mampu menghambat kegiatan mikroorganisme lain (27). Antibakteri meliputi (9,19) :

## 1. Bakteriostatik

Bakteriostatik adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dan bila senyawa habis maka bakteri dapat tumbuh kembali dan memperbanyak diri.

## 2. Bakterisid

Bakterisid adalah senyawa yang dapat membunuh bakteri, dan bila senyawa itu habis, bakteri tidak dapat tumbuh kembali.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Suatu mikroba bersifat bakteriostatik atau bakterisid dapat ditentukan oleh kadar yang diberikan. Antimikroba tertentu yang bersifat bakteriostatik dapat bersifat bakterisid bila kadarnya ditingkatkan melebihi KHM. Sebaliknya bila kadar lebih rendah dari KBM maka suatu antimikroba bersifat bakterisid dapat bersifat bakteriostatik atau tidak berefek sama sekali (18,27)

Sifat bakteriostatik dan bakterisid dapat pula diamati pada kejernihan zona inhibisi disekeliling antimikroba pada medium agar yang diinokulasi dengan mikroba uji tertentu dan diinkubasi selama 24 jam lalu dilanjutkan sampai 48 jam inkubasi. Bila zona inhibisi yang terjadi tetap bening sampai 48 jam inkubasi maka antimikroba yang digunakan bersifat bakterisid. Akan tetapi bila selama 24 jam inkubasi zona inhibisi bening kemudian menjadi

keruh setelah 48 jam, maka antimikroba yang digunakan bersifat bakteriostatik (18).

## **II.5 Mekanisme Kerja Antimikroba (18,19,20,21)**

Keefektifan penghambatan merupakan salah satu kriteria pemilihan suatu senyawa antimikroba untuk diaplikasikan sebagai bahan pengawet bahan pangan. Semakin kuat penghambatannya semakin efektif digunakan. Kerusakan yang ditimbulkan komponen antimikroba dapat bersifat mikrosidal (kerusakan tetap) atau mikrostatik (kerusakan sementara yang dapat kembali). Suatu komponen akan bersifat mikrosidal atau mikrostatik tergantung pada konsentrasi dan kultur yang digunakan.

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh : (1) Penghambatan metabolisme sel mikroba, (2) Penghambatan terhadap sintesis dinding sel mikroba, (3) Penghambatan terhadap keutuhan membran sel mikroba, (4) Penghambatan terhadap sintesis protein sel mikroba, (5) Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat sel mikroba.

### **II.5.1 Penghambatan Metabolisme Sel Mikroba**

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri pathogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam paraamino benzoate (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non

fungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Untuk dapat bekerja, dihidrofolat harus diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat.

### **II.5.2. Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel Mikroba**

Dinding sel mikroba secara kimia adalah peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk. Karena tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi daripada luar sel, maka kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis. Hal ini berdasarkan efek bakterisid pada mikroba yang sensitif.

### **II.5.3 Penghambatan Terhadap Keutuhan Membran Sel Mikroba**

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan menghambatnya pertumbuhan selnya atau matinya sel, akibatnya mikroba mati.

### **II.5.4. Penghambatan Terhadap Sintesis Protein Sel Mikroba**

Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein, sintesa protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terbagi atas 2 sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis



protein, komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan zat antimikroba dapat terjadi dengan beberapa cara, salah satunya adalah:

1. Zat antimikroba berikatan dengan 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba.
2. Dapat pula, zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya, rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru.

#### **II.5.5. Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba**

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Zat antimikroba bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut.

#### **II.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba (2,21)**

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan suatu hal yang penting untuk diketahui. Pengetahuan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sangat penting di

dalam mengendalikan mikroba. Berikut ini faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba adalah sebagai berikut :

### **1. Suplai Nutrisi**

Mikroba sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan suplai nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah : karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Kondisi tidak bersih dan higienis pada lingkungan adalah kondisi yang menyediakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sehingga mikroba dapat tumbuh berkembang di lingkungan seperti ini. Oleh karena itu, prinsip daripada menciptakan lingkungan bersih dan higienis adalah untuk mengeliminir dan meminimalisir sumber nutrisi bagi mikroba agar pertumbuhannya terkontrol.

### **2. Suhu/Temperatur**

Suhu merupakan salah satu faktor penting di dalam mempengaruhi dan pertumbuhan mikroorganisme. Suhu dapat mempengaruhi mikroba dalam dua cara yang berlawanan :

- 1) Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, maka kecepatan metabolisme akan menurun dan pertumbuhan diperlambat.

- 2) Apabila suhu naik atau turun secara drastis, tingkat pertumbuhan akan terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak, sehingga sel-sel menjadi mati.

Berdasarkan hal di atas, maka suhu yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme digolongkan menjadi tiga, yaitu :

- a) Suhu minimum yaitu suhu yang apabila berada di bawahnya maka pertumbuhan terhenti.
- b) Suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. ( Disebut juga suhu inkubasi )
- c) Suhu maksimum yaitu suhu yang apabila berada di atasnya maka pertumbuhan tidak terjadi.

Sehubungan dengan penggolongan suhu di atas, maka mikroba digolongkan menjadi :

**Tabel 1 : Penggolongan bakteri menurut suhu**

Kelompok	Suhu Minimum	Suhu Optimum	Suhu Maksimum
Psikrofil	- 15° C.	10° C.	20° C.
Psikrotrof	- 1° C.	25° C.	35° C.
Mesofil	5 – 10° C.	30 – 37° C.	40° C.
Thermofil	40° C.	45 – 55° C.	60 – 80° C.
Thermotrof	15° C.	42 – 46° C.	50° C.

Berdasarkan ketahanan panas, mikroba dikelompokkan menjadi tiga macam, yaitu :

- a) Peka terhadap panas, apabila semua sel rusak apabila dipanaskan pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 10-20 menit.
- b) Tahan terhadap panas, apabila dibutuhkan suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit untuk mematikan sel
- c) Thermodurik, dimana dibutuhkan suhu lebih dari  $60^{\circ}\text{C}$  selama 10-20 menit tapi kurang dari  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit untuk mematikan sel.

### **3. Keasaman atau Kebasaan (pH)**

Setiap organisme memiliki kisaran pH masing-masing dan memiliki pH optimum yang berbeda-beda. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 8,0–8,0 dan nilai pH di luar kisaran 2,0 sampai 10,0 biasanya bersifat merusak.

### **4. Ketersediaan oksigen**

Mikroorganisme memiliki karakteristik sendiri-sendiri di dalam kebutuhannya akan oksigen. Mikroorganisme dalam hal ini digolongkan menjadi :

- 1) Aerobik : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas.
- 2) Anaerob : hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas.
- 3) Anaerob fakultatif : dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas.
- 4) Mikroaerofilik : dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil

## II.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kemampuan Suatu Senyawa Antimikroba Untuk Menghambat Aktivitas Pertumbuhan Mikroba Dalam Sistem Pangan (18,19,20)

Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut.

### 1. Temperatur

Pengaruh temperatur terhadap aktivitas pertumbuhan mikroba telah diketahui sejak lama, terutama pemakaian pada suhu tinggi (pemanasan) dan suhu rendah (pendinginan dan pembekuan).

Minyak cengkeh dan minyak *sage* dengan konsentrasi satu persen mampu menurunkan jumlah sel *L. monocytogenes* sebanyak 2 log pada suhu 4°C selama 14 hari penyimpanan, bila dibanding pada suhu 24 °C selama 24 jam (Ting & Deibel, 1992). Minyak atsiri dari kayu manis, pala, *thyme*, dan cengkeh mempunyai efek bakteristatik dan bakterisidal terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella enteridis*, dan *C. jejuni* lebih baik pada suhu 4°C dibanding suhu 35°C. Aktivitas antimikroba dengan menurunkan suhu mencapai 4°C akan lebih efektif menghambat pertumbuhan beberapa strain bakteri. Mekanisme penghambatan disebabkan oleh terhambatnya aktivitas enzim pada suhu rendah dan penetrasi minyak atsiri lebih efektif pada suhu rendah terhadap membran sel sehingga akan

mempengaruhi keseimbangan komposisi sel.

## 2. Keasaman (pH)

Mekanisme penghambatan yang berhubungan dengan penurunan pH menunjukkan bahwa bentuk tak terdisosiasi semakin efektif.

Penghambatan yang terjadi melalui difusi yang cepat molekul tak terdisosiasi melalui membran plasma. Bentuk tak terdisosiasi suatu komponen antimikroba akan semakin mengakibatkan proton lebih cepat masuk ke dalam sel. Jika pH diturunkan (asam) maka proton yang terdapat dalam jumlah tinggi dalam medium akan masuk ke dalam sitoplasma sel. Sehingga proton ini harus dikeluarkan untuk mencegah terjadinya pengasaman dan denaturasi komponen-komponen sel. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya perbedaan gradien konsentrasi sehingga memerlukan energi. Semakin rendah pH semakin dibutuhkan energi dalam jumlah tinggi untuk menghilangkan proton tersebut dan lama-kelamaan sel akan mengalami kematian.

## 3. Interaksi (sinergi)

Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba akan semakin efektif jika dalam suatu pengolahan melibatkan beberapa faktor pengolahan yang saling bersinergi antara satu faktor pengolahan dengan faktor lainnya. Adanya interaksi sinergi beberapa faktor pengolahan pangan untuk mengawetkan produk olahan pangan telah menciptakan teknologi *hurdle* (rintangan). Teknologi ini

melibatkan interaksi temperatur, aw (*water activity*), pH, potensial redok, dan bahan pengawet (senyawa antimikroba) berperan nyata terhadap kestabilan produk pangan. Pada akhir-akhir ini terjadinya penurunan penggunaan aditif kimia dalam pengolahan makanan karena faktor kesehatan menyebabkan perhatian penelitian penggunaan bahan-bahan alami sebagai bahan pengawet makanan semakin meningkat, salah satunya adalah penggunaan bahan pengawet alami dari tanaman. Aplikasi penggunaan senyawa antimikroba dari tanaman sebagai pengawet makanan merupakan potensi besar yang dapat dikembangkan. Penggunaannya baik secara tunggal, kombinasi dengan bahan antimikroba lainnya, dan interaksi/sinergi dengan faktor pengolahan pangan lainnya. Ekplorasi senyawa-senyawa baru dengan memanfaatkan keanekaragaman hayati sumber tanaman Indonesia merupakan potensi besar yang perlu dikembangkan.

## **II.8 Metode "Standart Plate Count"**

Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah bakteri dalam susu. Tapi pada prinsipnya hanya dua dasar perhitungan, yaitu perhitungan langsung dan tidak langsung (22,23,24,).

1. Perhitungan langsung maksudnya adalah menghitung jumlah bakteri secara langsung dengan menggunakan mikroskop, baik bakteri hidup maupun yang sudah mati.

2. Metode "Standart Plate Count" (SPC), adalah perhitungan jumlah bakteri secara langsung. Jika perhitungan jumlah bakteri dengan mikroskop yang dihitung adalah bakteri-bakteri yang mati dan yang hidup (total bakteri), maka dengan SPC yang dihitung hanyalah bakter-bakteri yang hidup.

Data yang dilaporkan sebagai SPC harus mengikuti peraturan-peraturan sebagai berikut (23, 22) :

1. Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300. Jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung, lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng total dalam tiap gram contoh.
2. Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni 30 atau lebih dari koloni, dihitung jumlah rata-rata koloni, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total dalam tiap gram contoh.
3. Jika terdapat cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni antara 30-300, maka dihitung jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Apabila hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata lebih besar dari 2 kali jumlah koloni rata-rata pada pengenceran di bawahnya, maka angka lempeng total dipilih dari tingkat pengenceran yang lebih rendah, (misal pada pengenceran  $10^{-2}$  jumlah rata-rata 140, pada pengenceran  $10^{-3}$  jumlah



koloni rata-rata 32, maka dipilih jumlah koloni  $140 \times 10^2$ ). Bila hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata kurang dari 2 kali jumlah koloni rata-rata pada pengenceran di bawahnya, maka angka lempeng total dihitung dari rata-rata jumlah koloni kedua tingkat pengenceran tersebut. (misalnya pada pengenceran  $10^{-2}$  jumlah rata-rata 293, pada pengenceran  $10^{-3}$  jumlah koloni rata-rata 41.

4. Bila tidak ada satupun koloni dalam cawan maka angka lempeng total dinyatakan sebagai < dari satu dikalikan faktor pengenceran terendah.
5. Jika seluruh cawan menunjukkan jumlah koloni lebih dari 300, dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa sektor (2,4 atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor. Angka lempeng total adalah jumlah koloni dikalikan rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran.
6. Jika jumlah koloni rata-rata dari  $1/8$  bagian cawan lebih dari 200, maka angka lempeng total dinyatakan lebih besar dari  $200 \times 8$  dikalikan faktor pengenceran.
7. Perhitungan dan pencatatan hasil angka lempeng total hanya ditulis dalam dua angka. Angka berikutnya dibulatkan ke bawah bila kurang dari 5 dan dibulatkan ke atas bila lebih dari 5. sebagai contoh  $532 \times 10^3$  dibulatkan menjadi  $52 \times 10^4$  untuk  $83,6 \times 10^2$  dibulatkan.
8. Jika dijumpai koloni "spreader" meliputi seperempat sampai setengah bagian cawan, maka dihitung koloni yang tumbuh di luar daerah spreader.

9. Jika dijumpai koloni spereader tipe rantai, maka tiap satu deret koloni yang terpisah dihitung sebagai koloni, dan bila dalam kelompok spereader terdiri atas beberapa rantai, maka tiap rantai dihitung sebagai satu koloni.

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, botol pengencer, cawan Petri, gelas Erlenmeyer 250 ml dan 1000 ml, gelas ukur 100 dan 250 ml, incubator aerob, kertas saring, "Laminar Air Flow"(LAF), lampu spiritus, lemari pendingin (Glacio), neraca O'Haus, oven, autoklaf (All American), spektrofotometer UV, timbangan analitik (Chyo).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol, air suling, ekstrak tomat 20%, medium MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) Broth, medium NA (Nutrien Agar), Tahu, isolat *Lactobacillus sp.* dari Kol diperoleh dari hasil isolasi yang dihasilkan oleh A.Wiwiek. S.A

#### III.2 Metode Kerja

##### III.2.1 Sterilisasi alat yang akan digunakan

Alat-alat dari kaca seperti cawan Petri, tabung reaksi, gelas Erlenmeyer, gelas ukur, dididihkan dengan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  1% selama 5 menit. Kemudian dicuci kembali dengan air bersih. Tabung reaksi, gelas Erlenmeyer disumbat dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat dengan benang. Cawan Petri dibungkus dengan kertas perkamen. Selanjutnya disterilkan dalam oven pada suhu  $170^\circ\text{C}$  selama 2 jam, gelas ukur disterilkan di dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit, alat berupa ose, pinset disterilkan dengan cara pemijaran.

### **III.3 Pembuatan medium**

#### **III.3.1. Pembuatan medium MRSB**

Komposisi : peptone 1%,ekstrak daging 0,8%,ekstrak ragi 0,4%, glukosa 2%, kalium dihidrogen fosfat 0,2%, natrium asetat 0,5%, triamonium sitrat 0,2%, magnesium sulfat 0,02%, mangan sulfat 0,005%, air suling 1000 ml, pH  $6,5 \pm 0,2$ .

Cara pembuatan : bahan-bahan di atas ditimbang untuk 1000 ml medium, dimasukkan ke Erlenmeyer, dilarutkan dengan 1000 ml air suling,lalu cek pH 6-7, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

#### **III.3.2. Pembuatan Medium NA (Natrium Agar)**

Komposisi : ekstrak daging 0,3%, peptone 0,5%, agar 1,5% air suling 1000 ml, pH  $7,4 \pm 0,2$

Cara pembuatan : bahan-bahan di atas timbang untuk 50 ml medium, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan 30 ml air suling, dipanaskan hingga larut lalu dicek pH 7-8, kemudian dicukupkan volumenya hingga 50ml, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

### III.4. Penyiapan Sampel

#### III.4.1. Peremajaan *Lactobacillus sp*

Biakan murni *Lactobacillus sp* diremajakan dengan cara menginokulasikan secara aseptis 1 ose biakan bakteri pada medium MRSB dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1-2 x 24 jam.

#### III.4.2. Penyiapan Inokulum (Starter)

Diinokulasikan 10% Suspensi *Lactobacillus sp* ke dalam medium MRSB yang telah ditambahkan ekstrak tomat 20%, kemudian diinkubasi dengan waktu inkubasi selama 24 jam. Selanjutnya disentrifus selama 15 menit, 5000 rpm untuk memisahkan sel bakteri dan supernatan (metabolit yang mengandung senyawa antimikroba). Lapisan atas diambil (supernatan) untuk uji efek hasil fermentasi isolat terhadap Tahu

#### III.4.3. Pembuatan tahu

- a. Dipilih kedelai yang bermutu baik, kemudian dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada kedelai. Dengan perendaman yang dilakukan dalam air selama semalam, kedelai akan menyerap air sehingga lebih lunak dan memudahkan penggilingan.
- b. Setelah dikupas kulitnya, kedelai digiling dengan penambahan air panas sebanyak 1 bagian kedelai : 8 bagian air, penambahan air panas ini dimaksudkan untuk menginaktifkan enzim lipoksigenase dalam kedelai yang menyebabkan bau langu.

- c. Bubur kedelai yang diperoleh sebagai hasil penggilingan selanjutnya dimasak selama 15 menit untuk menginaktifkan pula zat antinutrisi kedelai (trypsin inhibitor) juga untuk meningkatkan nilai cerna. Bubur ini kemudian disaring.
- d. Hasil saringannya diendapkan dengan cara menambahkan asam cuka 70%, sebanyak 2 ml dalam setiap 1 liter sari tahu. Asam cuka berguna untuk mengkoagulasi protein yang berada di dalam sari kedelai sehingga terjadi pengendapan. Setelah mengendapkan, disaring kembali dan bagian yang padat "curd" dipres dengan alat pengepres. Selanjutnya dilakukan pemotongan sesuai dengan ukuran yang dikehendaki.

### III.5. Pengujian Efek Larutan Uji Terhadap produk Tahu

Pengujian efek larutan uji terhadap produk tahu dilakukan dengan tahu direndam dengan larutan uji (supernatan) *Lactobacillus sp* dengan lama perendaman yang bervariasi. Lama perendaman 30 menit, 1 jam dan 2 jam yang di simpan suhu kamar (30°C) dan suhu dingin (10°C) tetapi masing-masing disertai dengan tahu yang sebelumnya tidak direndam supernatan sebagai pembanding. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada penampakan bau dan lendir pada tahu.

#### III.5.1 Uji Penampakan bau dan lendir

Uji penampakan pada tahu dilakukan dengan melihat permukaan tahu yang berbau dan berlendir. Penilaian untuk uji penampakan bau dan lendir diberikan dengan angka 1-3, yaitu :

### **III.7. Pengumpulan dan Analisis Data**

Data dikumpulkan dari hasil pengamatan pada penampakan bau dan lendir pada permukaan tahu, serta hasil perhitungan jumlah koloni bakteri setelah penyimpanan 1-12 x 24 jam, kemudian dianalisis secara statistika.

### **III.8. Pembahasan Hasil**

Pembahasan hasil penelitian dilakukan berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV. 1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian uji efek hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol terhadap waktu penyimpanan tahu adalah sebagai berikut :

##### IV.1. 1 Hasil Pengujian Adanya Bau dan Lendir pada

##### Tahu pada Suhu Kamar dan Suhu Dingin

Tabel 2. Hasil Uji Penampakan Bau pada Tahu

Suhu	Lama simpan (hari)	Lama perendaman			
		Kontrol	30 menit	1 jam	2 jam
Suhu kamar	0 hari	3	3	3	3
	2 hari	2	3	3	3
	4 hari	1	2	2	3
	6 hari	-	1	1	2
	8 hari	-	-	-	1
	10 hari	-	-	-	-
	12 hari	-	-	-	-
Suhu Dingin	0 hari	3	3	3	3
	2 hari	3	3	3	3
	4 hari	2	3	3	3
	6 hari	1	3	3	3
	8 hari	-	1	2	3
	10 hari	-	-	1	3
	12 hari	-	-	-	2

Keterangan :

- 1 = sangat berbau
- 2 = berbau
- 3 = tidak berbau
- ( - )= tidak dilakukan pengamatan



Tabel. 3 Hasil Penampakan Lendir pada Tahu

Suhu	Lama simpan (hari)	Lama perendaman			
		Kontrol	30 menit	1 jam	2 jam
Suhu kamar	0 hari	3	3	3	3
	2 hari	2	2	3	3
	4 hari	1	2	2	2
	6 hari	-	1	1	1
	8 hari	-	-	-	-
	10 hari	-	-	-	-
	12 hari	-	-	-	-
Suhu Dingin	0 hari	3	3	3	3
	2 hari	3	3	3	3
	4 hari	1	3	3	3
	6 hari	-	3	3	3
	8 hari	-	2	2	3
	10 hari	-	1	1	3
	12 hari	-	-	-	2

Keterangan :

- 1 = sangat berlendir
- 2 = berlendir
- 3 = tidak berlendir
- (-) = tidak dilakukan pengamatan

#### IV. 1. 2 Jumlah Bakteri dalam Tahu

Hasil perhitungam jumlah rata- rata bakteri dalam tahu yang telah di rendam dengan supernatan adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Jumlah Bakteri dalam Tahu ( jumlah bakteri x 10<sup>6</sup>)

Suhu	Lama simpan	Lama perendaman				Supernatan
		kontrol	30 menit	1 jam	2 jam	
Suhu dingin	0 hari	0,3	0,34	0,5	0,5	0,5
	2 hari	0,4	0,42	3,4	3,8	
	4 hari	3,7	0,4	4,2	4,3	
	6 hari	6,5	3,45	4,9	6,05	
	8 hari	6,05	4,45	5,75	6,3	
	10 hari	8,8	4,4	7,6	7,45	
	12 hari	12	6,35	7,9	5	
Suhu Kamar	0 hari	0,3	0,39	0,46	0,58	0,5
	2 hari	TBUD	6,2	7,7	8,2	
	4 hari	-	TBUD	TBUD	TBUD	
	6 hari	-	-	-	-	
	8 hari	-	-	-	-	
	10 hari	-	-	-	-	
	12 hari	-	-	-	-	

TUBD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung  
 (-) = Tidak dilakukan perhitungan Bakteri  
 Kontrol = Tahu yang direndam dalam aquadest

Hasil perhitungan Jumlah Bakteri dalam Tahu selengkapnya dapat di lihat pada Lampiran 1 dan Lampiran 2.

#### IV.2 Pembahasan

Untuk mengetahui efek dari hasil fermentasi isolat *Lactobacillus* sp. dari kol pada tahu dilakukan dengan menggunakan beberapa parameter yaitu uji penampakan bau dan lendir serta jumlah total bakteri pada tahu.

a. Uji Penampakan Bau dan Lendir pada Tahu .

Untuk mengetahui efek dari hasil fermentasi isolat *Lactobacillus* sp. dari kol, maka dilakukan uji penampakan. Pada uji bau dan lendir kontrol ,30 menit, 1 jam dan 2 jam penyimpanan suhu kamar ( $\pm 28-30^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu dingin ( $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ) pada hari pertama semua tahu tidak berbau dan berlendir. Pada hari ke-2 kontrol pada suhu kamar tahu berbau dan berlendir karena tahu memiliki kandungan air yang tinggi, sehingga dapat dengan mudah ditumbuhi semua jenis mikroba pembusuk (1,2). Pada rendaman 30 menit, 1 jam dan 2 jam baik pada suhu kamar dan suhu dingin tidak berbau dan berlendir hal ini dikarenakan produk tahu mengandung metabolit sekunder yaitu bakteriosin yang bersifat antibakteri merupakan bahan pengawet potensial untuk mengontrol bakteri pencemar yang bersifat pembusuk pada tahu (4,7). Perendaman 30 menit dan 1 jam hari ke-4 tahu pada suhu kamar berbau dan berlendir dibanding dengan perendaman 30 menit, 1 jam dan 2 jam pada suhu lemari pendingin belum berbau dan berlendir hal ini disebabkan oleh faktor suhu yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroba pembusuk, dimana pada suhu kamar merupakan suhu optimum yaitu suhu dimana pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat (21). Pada perendaman 2 jam hari ke-6 suhu kamar produk tahu berbau dan berlendir serta pada perendaman 30 menit dan 1 jam pada suhu dingin. Sampai hari ke-12 perendaman 2 jam berbau dan berlendir karena kandungan metabolit

sekunder yang mempunyai efek anti bakteri dan pengawet kehilangan efek dan fungsi karena evolusi (27).

#### b. Total Bakteri Pada Tahu

Total bakteri tahu yang telah mengalami variasi perendaman setelah penyimpanan pada suhu kamar dan suhu dingin dihitung dengan metode SPC (*Standar Plate Count*) dengan menggunakan medium NA dimana pertumbuhan bakteri dapat diamati dengan terbentuknya koloni pada medium.

Dari hasil pengujian jumlah total bakteri pada tahu penyimpanan pada suhu kamar mengalami kenaikan jumlah koloni lebih cepat dari pada penyimpanan suhu dingin hal ini disebabkan oleh faktor suhu yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dimana kemampuan senyawa antimikroba lebih efektif pada suhu rendah dalam menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba yang mengkontaminasi dalam sistem pangan (18,20,21). Pada penyimpanan suhu kamar kontrol pada hari ke-2 mengalami kenaikan yang sangat cepat dimana jumlah total bakteri Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD) perendaman 2 jam sehingga penyimpanan dihentikan sampai pada hari ke-4. Penyimpanan pada suhu dingin jumlah total bakteri lebih terkontrol karena efek bakteristatik dan bakterisidal lebih baik pada suhu yang rendah (20,23).

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder *Lactobacillus sp* isolat dari kol memberikan efek terhadap waktu

penyimpanan tahu. Lama perendaman sangat berpengaruh terhadap jumlah bakteri hal ini yang di tunjukkan oleh kontrol sangat signifikan dengan lama perendaman 30 menit, tetapi tidak signifikan terhadap lama perendaman 1 jam dan 2 jam. Pada lama perendaman 30 menit sangat signifikan dengan kontrol dan 2 jam, tidak signifikan pada lama perendaman 1 jam. Pada perendaman 2 jam jumlah total bakteri tidak signifikan dengan kontrol, hal ini disebabkan karena larutan uji terserap pada tahu. Dari hasil pengujian jumlah total bakteri pada larutan uji menunjukkan bahwa larutan uji masih mengandung bakteri asam laktat hal ini di sebabkan karena pada saat pemanasan larutan uji bakteri asam laktat tidak mengalami kematian.

Senyawa antibakteri dalam hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp.* dari kol bersifat bakterisid, setelah diinkubasi 24 jam metabolit *Lactobacillus sp* aktif menghambat pertumbuhan bakteri yang sering mengkontaminasi makanan. Hal ini di dukung pula oleh hasil penelitian A.Asrianty yang telah membuktikan bahwa Bakteriosin merupakan senyawa peptida yang bersifat bakterisid, tidak hanya bakteriostatik (13). Mekanisme kerja antibakteri yang bersifat bakterisid adalah dengan cara mengganggu keutuhan membran sel mikroba. Menurut Wattimena (18), mikroba tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar tanpa adanya dinding sel, begitu pula jika terjadi kerusakan sel mikroba, maka dapat mengganggu pertukaran zat aktif yang penting untuk kelangsungan hidup mikroba. Hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp*

memenuhi syarat sebagai pengawet dimana kenaikan jumlah tidak lebih dari  $\log 10^1$  atau dengan kata lain tidak lebih dari 10 kali lipatnya (28).

Berdasarkan hasil pengamatan dari penampakan lendir dan bau pada tahu, dapat diketahui bahwa hasil fermentasi isolat *Lactobacillus* sp. dari kol memberikan efek terhadap waktu penyimpanan tahu.

Hasil uji statistika dengan metode Rancangan Faktorial diperoleh data yang berbeda sangat nyata, hal ini menunjukkan bahwa hasil fermentasi isolat *Lactobacillus* sp. dari kol memberikan efek terhadap tahu. hal ini dapat dilihat pada tabel anova yang menunjukkan bahwa antara  $F_{\text{Hitung}}$  lebih besar dari  $F_{\text{Tabel}}$  pada taraf 1 % dan 5 %.

Setelah dilakukan uji lanjut Duncan, pada lama perendaman 30 menit diperoleh data yang berbeda sangat nyata pada taraf 1 % dan 5 %, sedangkan pada lama perendaman 1 jam dan 2 jam data menunjukkan berbeda tidak nyata pada taraf 1% dan 5 %.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dan analisis statistika, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Metabolit hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* dari kol berpengaruh terhadap waktu penyimpanan tahu. Pada suhu dingin kontrol tahu berbau dan berlendir terjadi pada hari ke-2, pada lama perendaman 30 menit memberikan efek sampai hari ke-6. Lama perendaman 1 jam memberikan efek sampai pada hari ke-6, dan perendaman 2 jam memberikan efek sampai pada hari ke-10. Lama perendaman tahu sangat berpengaruh terhadap lama penyimpanan dan jumlah rata-rata total bakteri yang terdapat pada tahu. Semakin lama perendaman pada larutan uji, maka semakin banyak jumlah bakteri asam laktat pada tahu.

#### V.2 Saran

Disarankan untuk melakukan pengujian hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* pada produk makanan yang beredar di pasaran.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Astawan, M & Astawan, M.N 1988. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Akademika Pressindo. Jakarta . 104 – 107
2. Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., & Wooton, M. 1987. *Ilmu pangan*. Terjemahan oleh Hari purnomo & Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta, 97
3. Pradata, Y. 2007. *Membuat Tahu dan Tempe*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 7 – 12.
4. Djide, M.N. 2005. *Uraian Umum tentang Bakteri Asam Laktat*. Makalah disajikan dalam Kursus Singkat Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Bidang Pangan dan Kesehatan bagi Staf Akademik PTN KTI. UNHAS dan Ditjen Dikti, Depdiknas. Pusat Penelitian Unhas. Makassar, 14-24 November
5. Dwyana, Z., Ishak, E. 2005. *Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Bidang Pangan dan Kesehatan*. Makalah disajikan dalam Kursus Singkat Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Bidang Pangan dan Kesehatan bagi Staf Akademik PTN KTI. UNHAS dan Ditjen Dikti, Depdiknas. Pusat Penelitian Unhas. Makassar, 14-24 November.
6. Moriarty, D. 1999. Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. Di dalam Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P (editor). *Proceeding of the 8<sup>th</sup> International symposium on Microbial Ecology*. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Canada.
7. Sartini. 2005. *Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat sebagai Antimikroba dan Teknik Pengujian Aktivitas Antimikrobanya*. Makalah disajikan dalam Kursus Singkat Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Bidang Pangan dan Kesehatan bagi Staf Akademik PTN KTI. UNHAS dan Ditjen Dikti, Depdiknas. Makassar, 14-24 November.
8. Kusumawati, N., 2004. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. **9 (1)**: 19.



9. Widjajakarta, Marius. 2003. *Konsultasi Bahaya Makanan Berpengawet*. Copyright © 2002 PT. Kompas Cyber Media. Jakarta. Diakses 30 Agustus 2007.
10. Gobel, R.B. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat*. Makalah disajikan pada Kursus Singkat Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Bidang Pangan dan Kesehatan bagi Staf Akademik PTN KTI. UNHAS dan Ditjen Dikti, Depdiknas. Pusat Penelitian Unhas. Makassar, 14-24 November
11. Purwoko, T., Pramudyanti, I.R. 2004. Pengaruh  $\text{CaCO}_3$  pada Fermentasi Asam Laktat Oleh *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. **9 (1)**: 19
12. Wiwiek, A., SA. 2007. *Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Daun Kol (Brassica oleracea var. Capitata L.) dan Uji Pemanfaatannya Sebagai Antimikroba*. Fakultas Farmasi. UNHAS. Makassar
13. Asrianty, A. 2008. *Efek Antibakteri Dari Metabolit Lactobacillus sp Isolat Kol (Brassica oleracea L. Var Capitata) Terhadap Beberapa Bakteri Uji*. UNHAS, Makassar.
14. Ensiklopedi. Tanpa tahun. *Pangan plus Situs Teknologi Pangan Indonesia*. htm. [www.Google.Com](http://www.Google.Com). Diakses 19 Agustus 2007.
15. Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor Bekerjasama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi-IPB. Bogor.
16. Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI. Jakarta.
17. Dwijoseputro, D. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta
18. Wattimena. 1995. *Farmakodinami dan Terapi Antibiotika*. Universitas Airlangga Press. Surabaya
19. Baker, F. 1987. *Handbook of Bacteriological Technique*, Second Edition. West Mincher Medical School. London. 65-67
20. Pelczar, M.J., and Chan, E.C.S. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, jilid 2, Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S., dkk. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

21. Tracback. Tanpa Tahun. *Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba*. <http://rachdie.blogspot.com>, Diakses 30 Agustus 2008.
22. Volk, W A., dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, jilid I. Soenartono Adisoemarto. Erlangga. Jakarta
23. Baker F.J. 1967. *Handbook of Bacteriological Technique*, edisi II. Butterworths. London
24. Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8<sup>th</sup> Edition. The Williams & Wilkins Company, USA. 293, 484-489.
25. Staf pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Bina Rupa. Jakarta, 62-65
26. Cahyadi, W. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara
27. Widyastuti, Y. & Sofarianawati, E. 1999. Karakteristik Bakteri Asam Laktat *Enterococcus* sp. Yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Ternak. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. Vol. 4. No. 2. 50
28. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 854

Lampiran 1. Perhitungan Bakteri dalam Tahu yang di simpan Selama Empat Hari Pada Suhu Kamar ( $\pm 28-30^{\circ}C$ )

Lama simpan	Lama perendaman	Pengenceran			Jumlah bakteri
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
0 hari	Kontrol	39	24	13	$0,39 \times 10^6$
		31	28	9	$0,31 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,35 \times 10^6</math></b>
	30 menit	39	19	6	$0,37 \times 10^6$
		31	23	13	$0,31 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,34 \times 10^6</math></b>
	1 jam	46	29	17	$0,4 \times 10^6$
		52	32	20	$0,5 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,45 \times 10^6</math></b>
	2 jam	58	40	27	$0,58 \times 10^6$
49		36	24	$0,5 \times 10^6$	
<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,54 \times 10^6</math></b>	
2 hari	Kontrol	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
		TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	30 menit	105	52	69	$5,2 \times 10^6$
		124	77	74	$7,7 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>6,2 \times 10^6</math></b>
	1 jam	120	82	84	$8,2 \times 10^6$
		103	62	75	$6,2 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>7,7 \times 10^6</math></b>
	2 jam	148	9,7	74	$9,7 \times 10^6$
		145	6,7	89	$6,7 \times 10^6$
<b>Rata-rata</b>				<b><math>8,2 \times 10^6</math></b>	
4 hari	Kontrol	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
		TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	<b>Rata-rata</b>				
	30 menit	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
		TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	<b>Rata-rata</b>				
	1 jam	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
		TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	<b>Rata-rata</b>				
	2 jam	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
TBUD		TBUD	TBUD	TBUD	
<b>Rata-rata</b>					

Keterangan : TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

Lampiran 2. Perhitungan Bakteri dalam Tahu yang di simpan Selama Dua belas Hari Pada Suhu Dingin ( $\pm 10^{\circ}\text{C}$ )

Lama simpan	Lama perendaman	Pengenceran			Jumlah bakteri
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
0 hari	Kontrol	35	24	13	$0,35 \times 10^6$
		32	28	9	$0,32 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,34 \times 10^6</math></b>
	30 menit	39	19	6	$0,39 \times 10^6$
		45	23	13	$0,45 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,4 \times 10^6</math></b>
	1 jam	52	29	17	$0,5 \times 10^6$
		57	32	20	$0,57 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,53 \times 10^6</math></b>
	2 jam	58	46	27	$0,5 \times 10^6$
49		43	24	$0,49 \times 10^6$	
<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,5 \times 10^6</math></b>	
2 hari	Kontrol	44	29	13	$0,4 \times 10^6$
		39	27	8	$0,4 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,4 \times 10^6</math></b>
	30 menit	35	21	15	$0,35 \times 10^6$
		38	24	19	$0,4 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,4 \times 10^6</math></b>
	1 jam	57	35	30	$3,5 \times 10^6$
		66	33	28	$3,3 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>3,4 \times 10^6</math></b>
	2 jam	77	39	32	$3,9 \times 10^6$
80		36	30	$3,6 \times 10^6$	
<b>Rata-rata</b>				<b><math>3,8 \times 10^6</math></b>	
4 hari	Kontrol	77	31	38	$3,1 \times 10^6$
		84	43	35	$4,3 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>3,7 \times 10^6</math></b>
	30 menit	43	29	23	$0,4 \times 10^6$
		39	31	18	$0,4 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>0,4 \times 10^6</math></b>
	1 jam	71	40	32	$4,0 \times 10^6$
		63	44	36	$4,4 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>4,2 \times 10^6</math></b>
	2 jam	89	45	38	$4,5 \times 10^6$
76		41	36	$4,1 \times 10^6$	
<b>Rata-rata</b>				<b><math>4,3 \times 10^6</math></b>	
6 hari	Kontrol	112	63	42	$6,3 \times 10^6$
		101	67	58	$6,7 \times 10^6$
	<b>Rata-rata</b>				<b><math>6,5 \times 10^6</math></b>
	30 menit	76	30	26	$3,0 \times 10^6$

		68	39	29	$3,9 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>3,45 \times 10^6</math></b>
	1 jam	111	51	67	$5,1 \times 10^6$
		121	47	50	$4,7 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>4,9 \times 10^6</math></b>
	2 jam	123	68	46	$6,8 \times 10^6$
		117	53	48	$5,3 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>6,05 \times 10^6</math></b>
8 hari	Kontrol	127	54	42	$5,4 \times 10^6$
		135	67	53	$6,7 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>6,05 \times 10^6</math></b>
	30 menit	74	49	26	$4,9 \times 10^6$
		83	47	29	$4,0 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>4,45 \times 10^6</math></b>
	1 jam	122	63	33	$6,3 \times 10^6$
		108	52	41	$5,2 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>5,75 \times 10^6</math></b>
	2 jam	132	65	59	$6,5 \times 10^6$
	119	61	63	$6,1 \times 10^6$	
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>6,3 \times 10^6</math></b>
10 hari	Kontrol	127	81	55	$8,1 \times 10^6$
		135	95	59	$9,5 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>8,8 \times 10^6</math></b>
	30 menit	103	46	37	$4,6 \times 10^6$
		112	42	49	$4,2 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>4,4 \times 10^6</math></b>
	1 jam	119	72	64	$7,2 \times 10^6$
		112	79	68	$7,9 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>7,6 \times 10^6</math></b>
	2 jam	122	82	69	$8,2 \times 10^6$
	113	67	77	$6,7 \times 10^6$	
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>7,45 \times 10^6</math></b>
12 hari	Kontrol	162	127	78	$12,7 \times 10^6$
		159	113	75	$11,3 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>12 \times 10^6</math></b>
	30 menit	94	69	59	$6,9 \times 10^6$
		74	58	58	$5,8 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>6,35 \times 10^6</math></b>
	1 jam	122	81	43	$8,1 \times 10^6$
		130	77	45	$7,7 \times 10^6$
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>7,9 \times 10^6</math></b>
	2 jam	149	104	42	$10,4 \times 10^6$
	136	96	51	$9,6 \times 10^6$	
		<b>Rata-rata</b>			<b><math>5 \times 10^6</math></b>

## Lampiran 3. Contoh Perhitungan Jumlah Bakteri dalam tahu

Pengenceran	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$
Jumlah Bakteri	237	51	30	5

Diambil pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$

$$\frac{30 \times 10^{-6}}{51 \times 10^{-5}} = 5,88 > 2$$

Karena perbandingan hasil perhitungan pada tingkat yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata pada pengenceran di bawahnya, maka nilai SPC/ angka lempeng total dipilih dari tingkat pengenceran yang lebih rendah.

Nilai SPC yang di laporkan :  $5,1 \times 10^{-6}$

Tabel 5. Perhitungan Statistik Jumlah Bakteri dalam Produk Tahu Menggunakan Rancangan Faktorial (Jumlah Bakteri x  $10^6$ )

Lama simpan	Lama perendaman				Total
	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	
X <sub>1</sub>	0,35	0,4	0,5	0,5	
	0,32	0,3	0,5	0,5	
$\Sigma$	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3,4</b>
Rata-rata	0,3	0,4	0,5	0,5	1,7
X <sub>2</sub>	0,4	0,4	3,5	3,9	
	0,4	0,4	3,3	3,6	
$\Sigma$	<b>0,8</b>	<b>0,8</b>	<b>6,8</b>	<b>7,5</b>	<b>15,9</b>
Rata-rata	0,4	0,4	3,4	3,75	7,9
X <sub>3</sub>	3,1	0,4	4,0	4,5	
	4,3	0,4	4,4	4,1	
$\Sigma$	<b>7,4</b>	<b>0,8</b>	<b>8,4</b>	<b>8,6</b>	<b>25,2</b>
Rata-rata	3,7	0,4	4,2	4,3	12,6
X <sub>4</sub>	6,3	3,0	5,1	6,8	
	6,7	3,9	4,7	5,3	
$\Sigma$	<b>13</b>	<b>6,9</b>	<b>9,8</b>	<b>12,1</b>	<b>41,8</b>
Rata-rata	6,5	3,5	4,9	6,1	20,9
X <sub>5</sub>	5,4	3,7	6,3	6,5	
	6,7	4,0	5,2	6,1	
$\Sigma$	<b>12,1</b>	<b>7,7</b>	<b>11,5</b>	<b>12,6</b>	<b>43,9</b>
Rata-rata	6,1	3,9	5,8	6,3	21,9
X <sub>6</sub>	8,1	4,6	7,2	8,2	
	9,5	4,2	6,6	6,7	
$\Sigma$	<b>17,6</b>	<b>8,8</b>	<b>13,8</b>	<b>14,9</b>	<b>55,1</b>
Rata-rata	8,8	4,4	6,9	7,5	27,6
X <sub>7</sub>	12,7	6,9	8,1	10,4	
	11,3	5,8	9,3	9,6	
$\Sigma$	<b>24</b>	<b>12,7</b>	<b>17,4</b>	<b>20</b>	<b>74,1</b>
Rata-rata	12	6,4	8,7	10	37,1
<b>Total</b>	<b>75,6</b>	<b>38,4</b>	<b>68,7</b>	<b>76,7</b>	<b>259,4</b>
<b>Rata-rata</b>	<b>10,8</b>	<b>5,5</b>	<b>9,8</b>	<b>10,95</b>	<b>9,26</b>

Keterangan :

- $Y_1$  = Kontrol (tidak direndam dengan supernatant)  
 $Y_2$  = Lama perendaman 30 Menit  
 $Y_3$  = Lama perendaman 1 jam  
 $Y_4$  = Lama perendaman 2 jam  
 $X_1$  = Penyimpanan pada hari ke-0  
 $X_2$  = Penyimpanan pada hari ke-2  
 $X_3$  = Penyimpanan pada hari ke-4  
 $X_4$  = Penyimpanan pada hari ke-6  
 $X_5$  = Penyimpanan pada hari ke-8  
 $X_6$  = Penyimpanan pada hari ke-10  
 $X_7$  = Penyimpanan pada hari ke-12

### 1. Perhitungan FK, JKT, JKK,JKP dan JKG

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(259,4)^2}{A \times b \times r} \\
 &= \frac{67288,36}{7 \times 4 \times 2} \\
 &= 1201,57
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKT &= [(0,35)^2 + (0,32)^2 + \dots + (9,6)^2] - FK \\
 &= 1760,25 - 1201,57 \\
 &= 558,68
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 JKP &= \frac{[(0,7)^2 + (0,7)^2 + \dots + (20)^2]}{R} - FK \\
 &= \frac{3502,14}{2} - 1201,57 \\
 &= 549,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKG &= JKT - JKP \\
 &= 558,68 - 549,5 \\
 &= 9,18
 \end{aligned}$$

## 2. Perhitungan pengaruh utama dan interaksi faktor A dan faktor B

$$\begin{aligned}
 JK_A &= \frac{(X_1)^2 + (X_2)^2 + (X_3)^2 + \dots + (X_7)^2}{A \times R} - FK \\
 &= \frac{(3,38)^2 + (15,9)^2 + (25,2)^2 + \dots + (74,1)^2}{4 \times 2} - 1201,57 \\
 &= 1637,58 - 1201,57 \\
 &= 436,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_B &= \frac{(Y_1)^2 + (Y_2)^2 + (Y_3)^2 + (Y_4)^2}{B \times R} - FK \\
 &= \frac{(85,47)^2 + (39,84)^2 + (68,3)^2 + (61,61)^2}{7 \times 2} - 1163,17 \\
 &= 1270,89 - 1201,57 \\
 &= 69,32
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{AB} &= JKP - JK_A - JK_B \\
 &= 549,5 - 436,01 - 69,32 \\
 &= 44,17
 \end{aligned}$$

## 1. Perhitungan derajat bebas (db)

$$\begin{aligned}
 \text{db perlakuan} &= ab - 1 = (7)(4) - 1 = 27 \\
 \text{db galat} &= (r - 1)ab = (2 - 1) 7 \times 4 = 28 \\
 \text{db total} &= rab - 1 = (2)(7)(4) - 1 = 55 \\
 \text{db A} &= A - 1 = 4 - 1 = 3 \\
 \text{db B} &= B - 1 = 7 - 1 = 6 \\
 \text{db AB} &= (a - 1)(b - 1) = (7 - 1)(4 - 1) = 18
 \end{aligned}$$

Table Anova

Sumber keragaman	Db	JK	KT	Fh	F. Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	27	549,5	20,35			
A	3	436,01	145,33	454,15**	2,95	4,57
B	6	69,32	11,55	36,09**	2,44	2,53
AB	18	44,17	2,45	7,65**	2,02	2,71
Galat	28	9,18	0,32			
Total	55	558,68				

Keterangan : \*\* berarti sangat berbeda nyata karena  $F_{hitung}$  lebih besar dari  $F_{tabel}$  berarti hasil fermentasi isolat *Lactobacillus sp* memberikan efek terhadap daya simpan produk tahu.

$$\text{Nilai tengah } (y) = \frac{T_{ij}}{r.t} = \frac{259,4}{56} = 4,62$$

## Koefisien Keragaman

$$\begin{aligned}
 KK &= \frac{\sqrt{KTG}}{4,62} \times 100 \% \\
 &= \frac{\sqrt{0,32}}{4,62} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,57}{4,62} \times 100 \% = 12,33 \%
 \end{aligned}$$

## UJI DUNCAN

$$JNTD\alpha = P\alpha (p.v)S\gamma$$

$$S\gamma = \sqrt{\frac{KTG}{replikasi}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,32}{2}} = \sqrt{0,16} = 0,4 = 0,4$$

**Tabel Uji Duncan**

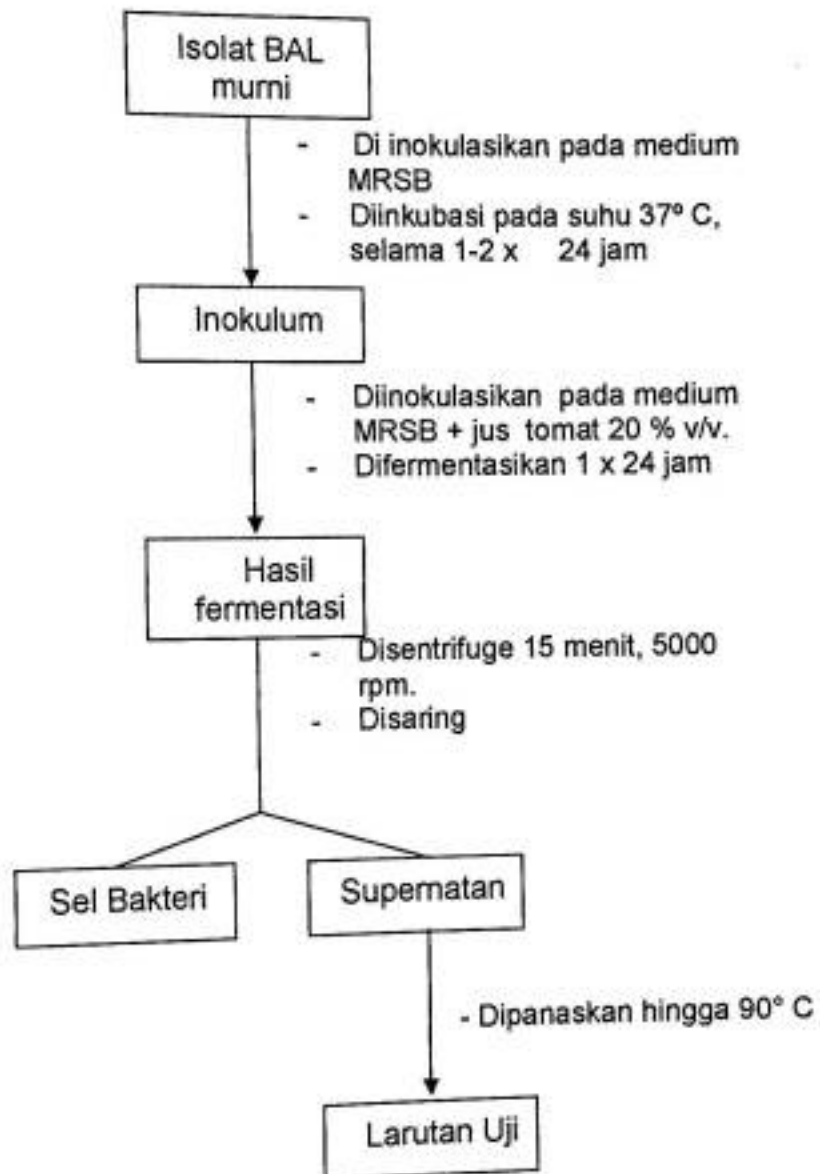
Perlakuan	Rata-rata	Beda jarak dengan		
		Kontrol	30 menit	1 jam
Kontrol	10,8	-	-	-
30 menit	5,5	5,45 <sup>SS</sup>	-	-
1 jam	9,8	1,15 <sup>NS</sup>	1 <sup>NS</sup>	-
2 jam	10,95	0,15 <sup>NS</sup>	5,3 <sup>SS</sup>	4,3 <sup>SS</sup>
$P_{(0,05)(28)}$		2,90	3,04	3,13
$P_{(0,01)(28)}$		3,91	4,08	4,18
$BJND_{0,05}$	(P.S $\gamma$ )	1,16	1,216	1,252
$BJND_{0,01}$	(P.S $\gamma$ )	1,564	1,632	1,672

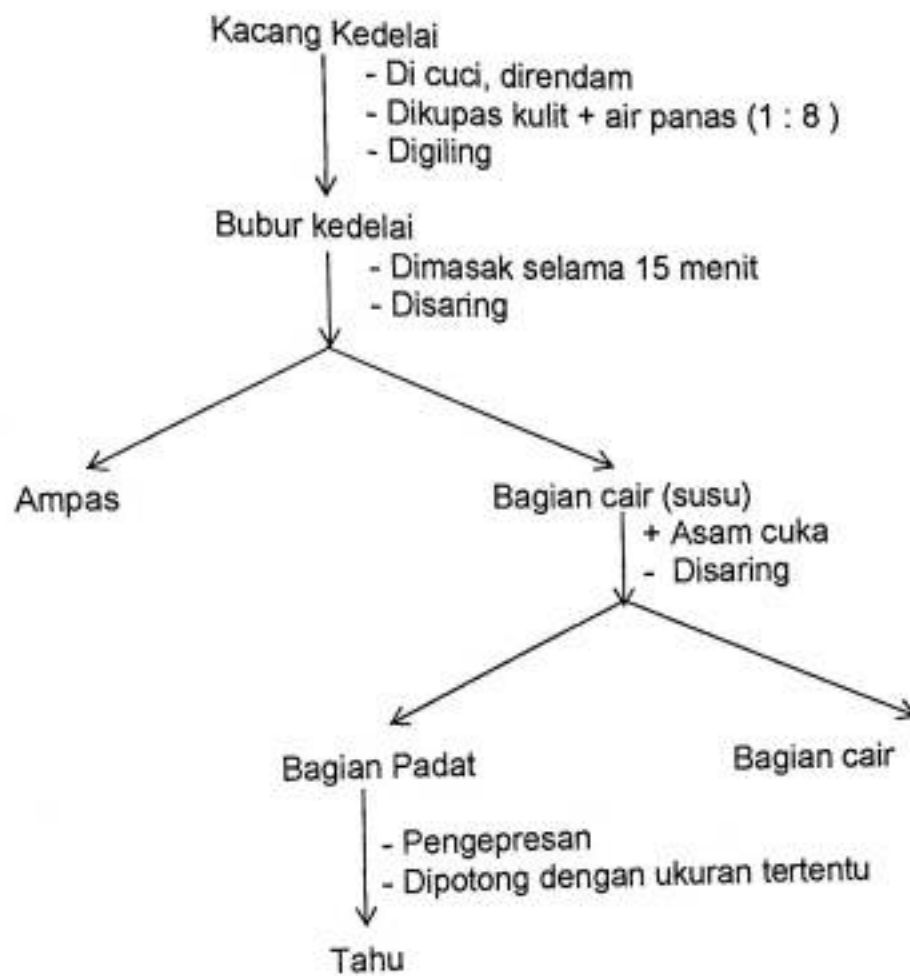
Keterangan :

SS = Sangat Signifikan

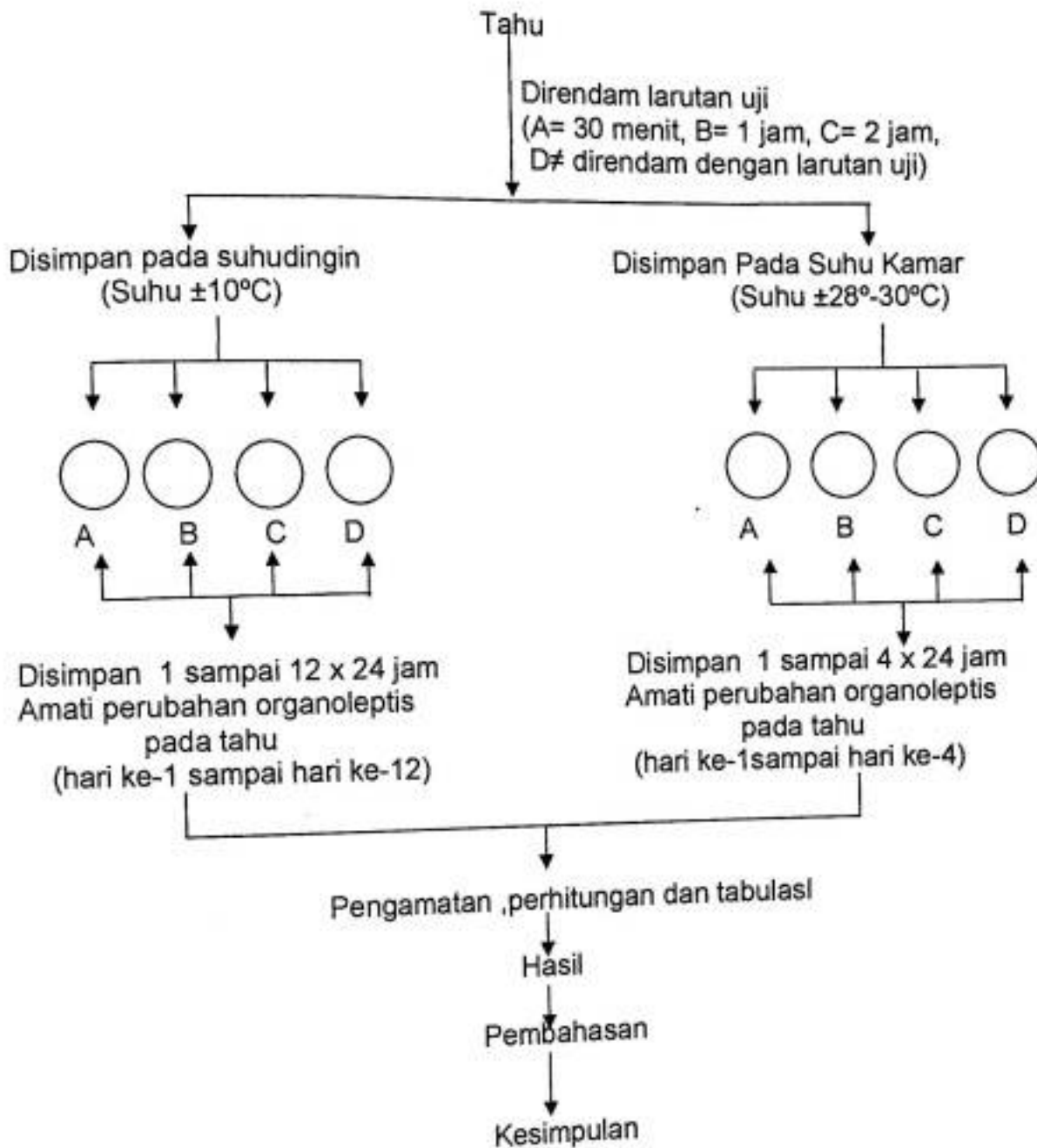
S = Signifikan

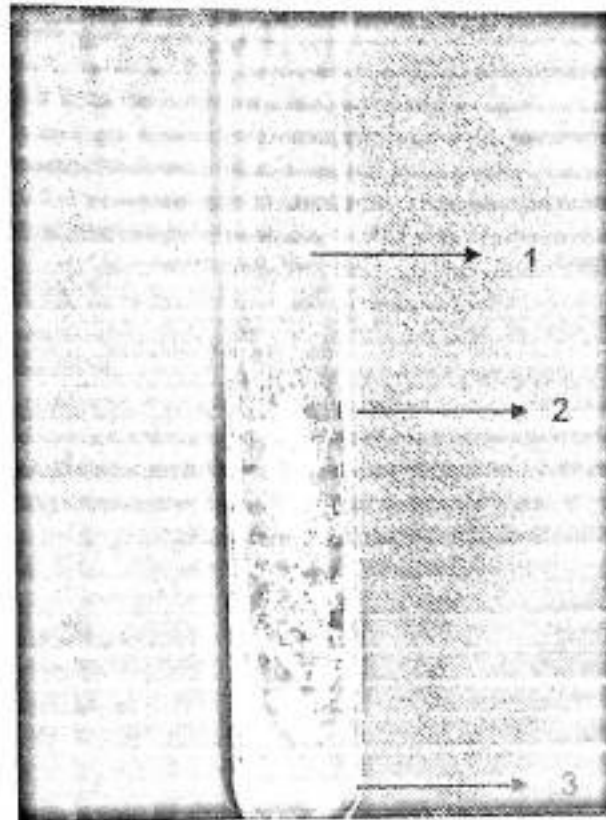
NS = Non Signifikan

**Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Larutan uji**

**Lampiran 5. Skema kerja Pembuatan Tahu**

### Lampiran 6. Skema Kerja Pengujian Efek Larutan Uji pada Tahu

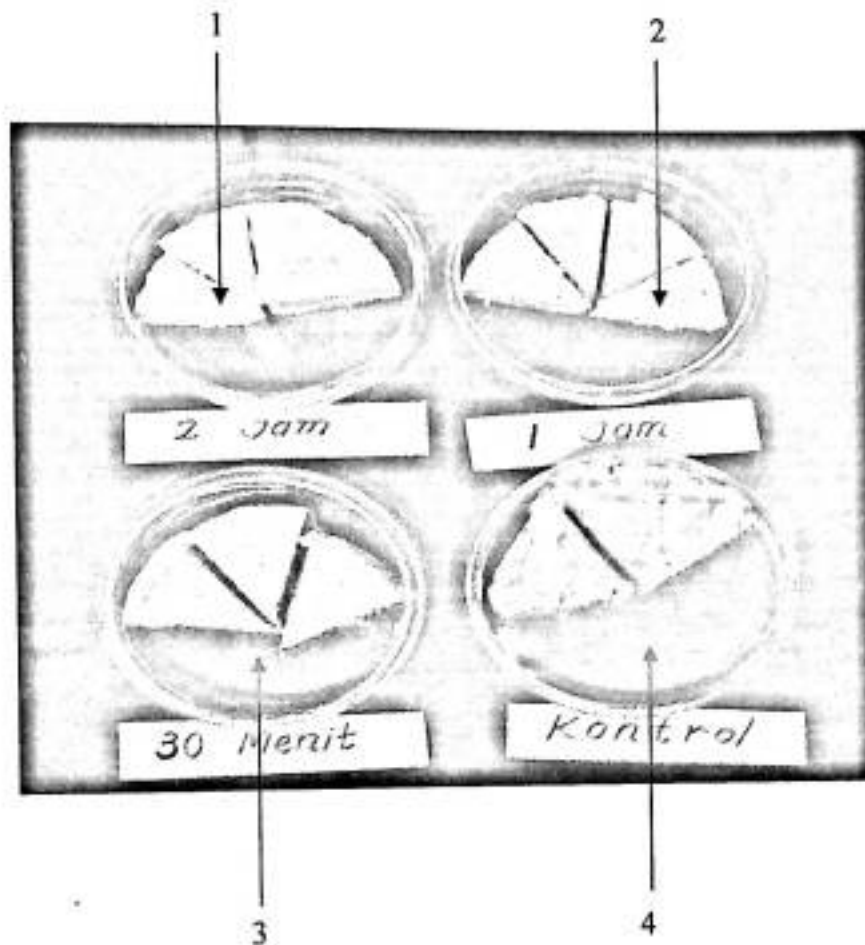




Gambar 2. Gambar isolat murni *Lactobacillus* sp. dari kol (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)

Keterangan:

- 1 : Biakan *Lactobacillus* sp.
- 2 : Tabung reaksi
- 3 : Medium NA

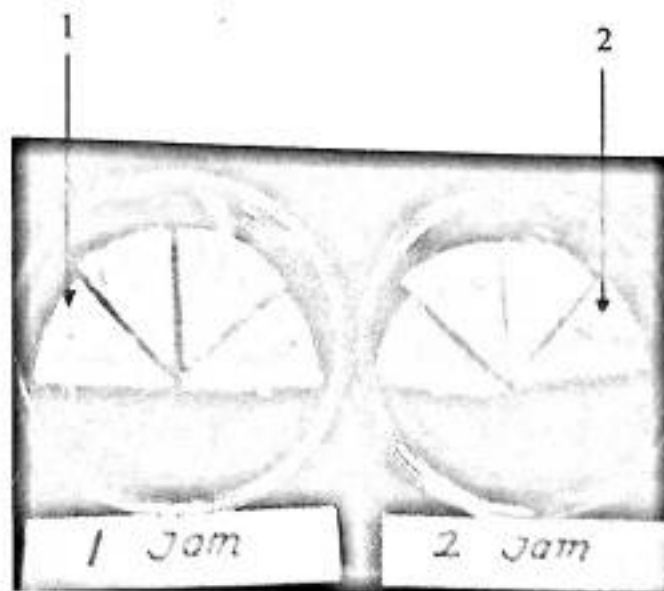


Gambar 3. Gambar penampakan organoleptik produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji.

Keterangan:

- 1 : produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 2 jam
- 2 : produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 1 jam
- 3 : produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 30 menit
- 4 : produk tahu yang tidak direndam dengan larutan uji



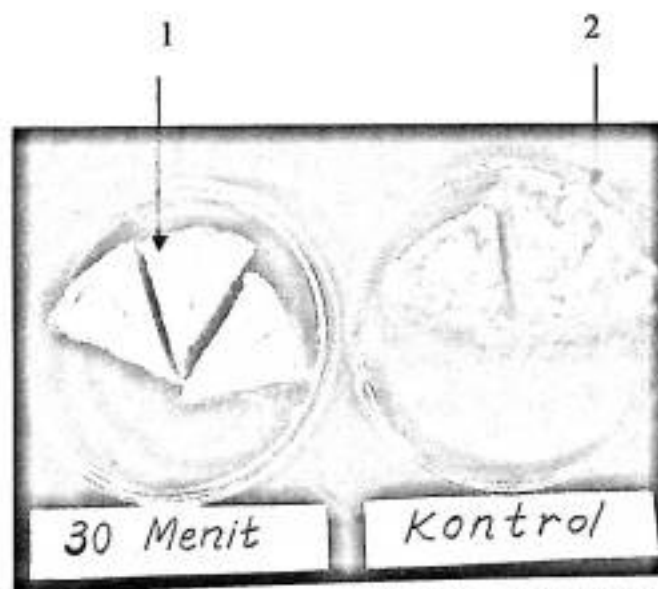


Gambar 4. Gambar penampakan organoleptik produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji.

Keterangan:

1 : Produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 1 jam

2 : Produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 2 jam

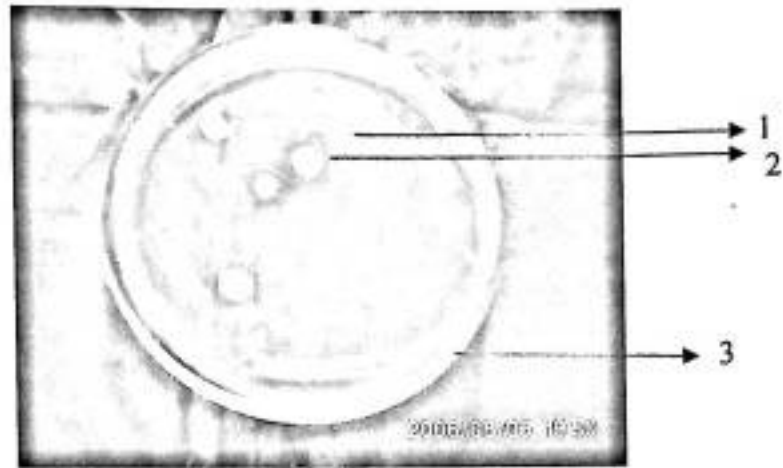


Gambar 5. Gambar penampakan organoleptik produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji

Keterangan:

1 : Produk tahu yang telah direndam dengan larutan uji selama 30 menit

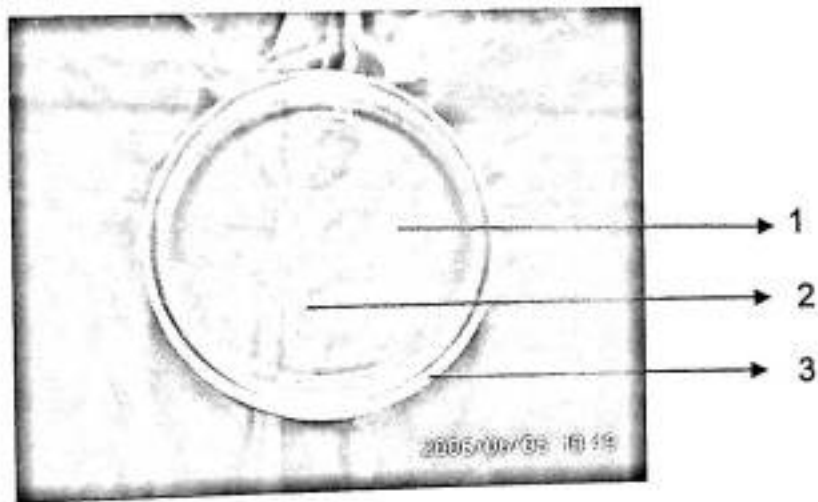
2 : Produk tahu yang tidak direndam dengan larutan uji ( kontrol negatif)



Gambar 6. Gambar penampakan koloni produk tahu pada medium NA

Keterangan:

1. Medium NA
2. Koloni Bakteri
3. Cawan Petri



Gambar 7. Gambar penampakan koloni larutan uji pada medium NA

Keterangan:

1. Medium NA
2. Koloni Bakteri
3. Cawan Petri