



## Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea* L.) Pada pH 3

Kevin Viktor Bawole<sup>a\*</sup>, Stella Deiby Umboh<sup>a\*</sup>, Trina Ekawati Tallei<sup>a\*</sup>  
Jurusan Biologi, FMIPA, Unsrat, Manado

### KATA KUNCI

Probiotik  
Fermentasi  
Tahan asam  
Katalase

### ABSTRAK

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang tepat dapat memberikan manfaat bagi tubuh. Sebagian besar bakteri asam laktat merupakan bakteri probiotik. Untuk dapat memberikan manfaat yang maksimal bagi tubuh, salah satu kriteria yang harus dipenuhi yaitu mampu bertahan hidup pada kondisi pH yang rendah. Hal ini dikarenakan bakteri probiotik akan menghadapi kondisi pH rendah yang terdapat di lambung. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan isolat BAL hasil fermentasi kubis merah untuk bertahan hidup pada pH 3. Bakteri asam laktat ditumbuhkan pada media MRS agar yang ditambahkan 1% CaCO<sub>3</sub> dengan menggunakan metode sebar (spread) dan dimurnikan menggunakan metode gores (streak). Uji ketahanan asam dilakukan dengan cara isolat diinkubasi pada kondisi pH 3 dalam media NB kemudian ditumbuhkan kembali pada media NA dengan menggunakan metode spread. Uji dilakukan juga untuk mengamati aktivitas enzim katalase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh dari hasil fermentasi kubis merah mampu bertahan pada pH 3.

### KEYWORDS

Probiotic  
Fermentation,  
Acid resistance  
Catalase

### ABSTRACT

Probiotics is a living microorganism that if consumed in the right amount can provide benefits to the body. Most lactic acid bacteria are probiotic bacteria. To be able to provide maximum benefits for the body, one of the criteria that must be met is able to survive at low pH. This is because probiotic bacteria will face low pH conditions found in the stomach. This study aims to test the effectiveness of BAL isolates from red cabbage fermentation to survive at pH 3. Lactic acid bacteria grown on MRS media added 1% CaCO<sub>3</sub> by using spread method and purified by using streak method. The acid resistance test was performed by isolate incubated at pH 3 condition in NB medium by using spread method. Test were also conducted to observe the activity of catalase enzymes. The result showed that isolates obtained from red cabbage fermentation were able to survive at pH 3.

### TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2018

### 1. Pendahuluan

Probiotik merupakan suplemen berupa mikroba hidup yang memiliki manfaat bagi inangnya dengan cara meningkatkan keseimbangan mikroba di dalam tubuh (Fuller, 1989). Efek fisiologis yang diberikan probiotik yaitu antikolesterol, antihipertensi, mengurangi intoleransi laktosa, anti karsinogenik, mengatasi gangguan saluran pencernaan serta alergi (Ooi dan Min-Tze, 2010). Sebagian besar

bakteri asam laktat merupakan bakteri probiotik. Sejumlah BAL dari genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus* telah banyak digunakan sebagai strain probiotik (Ljungh dan Wadström, 2006). Bakteri asam laktat antara lain dapat diperoleh melalui proses fermentasi sayuran. Fermentasi merupakan suatu proses metabolik untuk menghasilkan energi dari senyawa-senyawa organik

\*Corresponding author: Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: trina\_tallei@unsrat.ac.id

tanpa melibatkan agen pengoksidasi eksogen (Bourdichon *et al.*, 2012). Salah satu bahan utama dalam proses fermentasi sayuran yaitu kubis putih. Hal ini disebabkan kubis putih lebih mudah diperoleh dibandingkan kubis merah, akan tetapi kubis merah memiliki aktivitas antioksidan dan kandungan antosianin yang tinggi dibandingkan dengan sayuran kubis-kubisan lainnya (Yee *et al.*, 2007).

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama (Vasiljevic dan Shah, 2008). Bakteri ini bersifat Gram positif, berbentuk kokus, coccobacilli, atau basil. Bakteri ini memfermentasi karbohidrat untuk membentuk asam laktat, CO<sub>2</sub>, dan etanol, serta biasanya tidak menghasilkan katalase atau katalase negatif (Vasiljevic dan Shah, 2008). Bakteri asam laktat biasanya lebih toleran terhadap kondisi lingkungan pH asam (FAO, 1998). Bakteri ini memiliki kemampuan menurunkan pH makanan sehingga pada kondisi pH yang rendah pertumbuhan mikroorganisme lain termasuk bakteri patogen akan terhambat (Karthikeyan dan Santosh, 2009). Hal pertama yang dihadapi bakteri probiotik ketika ditelan adalah kondisi pH rendah yang terdapat di lambung (Bron *et al.*, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan isolat BAL hasil fermentasi kubis merah untuk bertahan hidup pada pH 3.

## 2. Material dan Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, mikro pipet, tabung Eppendorf, mason jar, autoclaff, labu erlenmeyer, cawan petri, pipet tetes, gelas ukur, mikroskop, refrigerator, jarum oose, bunshen, inkubator, magnetic stirer, laminar airflow, kompor listrik, sentrifuse, masker, sarung tangan, kamera, dan gunting.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kubis merah, MRSA (de Mann Rogose and Sharpe Agar), natrium asam taurodeoksikolat, alkohol, Aquades, CaCO<sub>3</sub>, gliserol, spritus, dan aluminium foil.

### Isolasi Bakteri Asam Laktat

Kubis merah pertama-tama dibersihkan terlebih dahulu tanpa dibilas dengan air, lapisan luar dari kubis merah dikeluarkan dan bagian dalam dipotong-potong menjadi potongan kecil. Bagian yang telah dipotong-potong dimasukkan ke dalam botol kaca (Mason jar) steril yang kemudian diisi dengan larutan garam 15%. Mason jar kemudian ditutup rapat dan difermentasikan selama 7 hari. Cairan hasil fermentasi diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100 µl kemudian disebar secara merata diatas media MRSA yang mengandung CaCO<sub>3</sub> 1%. Media MRSA kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama dua sampai tiga hari. Koloni BAL yang berhasil tumbuh pada MRSA akan menghasilkan zona bening yang dapat diamati. Masing-masing koloni yang menghasilkan zona bening selanjutnya dimurnikan dengan metode gores untuk memperoleh bakteri tunggal. Bakteri

tunggal kemudian dipindahkan pada media agar miring untuk digunakan sebagai isolat uji.

### Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi yang dilakukan meliputi identifikasi secara makroskopik yaitu mengamati bentuk morfologi koloni dan uji katalase. Identifikasi secara makroskopik dilakukan dengan cara mengamati secara langsung bentuk dan morfologi koloni yang tumbuh, meliputi bentuk, warna, tepi, permukaan dan elevasi. Selanjutnya uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan 1 sampai 2 tetes larutan pada bakteri yang telah dioleskan sebanyak 1 ose di atas kaca obyek. Jika terbentuk gelembung berarti bersifat katalase positif sedangkan jika tidak terbentuk gelembung berarti bersifat katalase negatif.

### Uji Ketahanan Asam Isolat

Bakteri uji ditanam dalam media NB (*nutrient broth*) sebanyak 1ml dalam tabung Eppendorf lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam. Bakteri yang berumur 24 jam kemudian ditetesi HCl yang telah diencerkan sebanyak 10 µl pada tiap tabung Eppendorf sehingga mencapai pH 3, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama tiga jam. Setiap jam, sebanyak 200 µl inokulum disebar di atas media MRSA dan diinkubasi pada 37°C. Pengamatan dilakukan selama lima hari. Kontrol untuk uji ketahanan terhadap pH rendah berupa isolat yang ditumbuhkan dalam NB selama 24 jam namun tidak diberi perlakuan HCl dan ditumbuhkan pada media MRSA.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### Isolasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat telah berhasil diisolasi dari kubis merah. Cairan hasil fermentasi terlihat berwarna ungu pekat, yang merupakan warna dari antosianin kubis merah.



Gambar 1. Hasil fermentasi kubis merah selama 7 hari.

Cairan fermentasi kubis merah ditebar di media MRSA yang mengandung CaCO<sub>3</sub> 1%. Di sekitar koloni bakteri dapat diamati zona bening akibat terbentuknya Ca-laktat, yang menandakan bahwa asam laktat yang dihasilkan oleh BAL pada media MRSA telah bereaksi dengan CaCO<sub>3</sub>. Koloni bakteri yang ditanam pada media MRSA tanpa CaCO<sub>3</sub> tidak

menghasilkan zona bening. Koloni kemudian dimurnikan menggunakan metode gores kemudian dipindahkan dan disimpan dalam media agar miring untuk dilakukan uji kemampuan isolat bertahan hidup pada pH 3.

#### Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Isolat yang telah diisolasi dan dimurnikan kemudian diidentifikasi secara makroskopis yaitu dengan cara mengamati bentuk koloni, warna koloni, tepian koloni, dan permukaan koloni. Koloni bakteri yang diperoleh dari hasil fermentasi kubis merah memiliki ciri-ciri berwarna putih susu, bentuk bulat, tepian licin, dan permukaan cembung.

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat bakteri hasil fermentasi kubis merah secara makroskopik

Nama	Karakterisasi Morfologi			
	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepi Koloni	Permukaan Koloni
Isolat 1	Bulat	Putih Susu	Licin	Cembung

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa isolat hasil fermentasi kubis merah merupakan bakteri katalase negatif. Hal ini terlihat ketika isolat dioleskan pada larutan  $H_2O_2$  tidak menimbulkan reaksi berupa gelembung oksigen (Gambar 2A). Ini menandakan bakteri tidak menghasilkan enzim katalase yang akan mengubah  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen. Hasil ini dibandingkan dengan hasil uji katalase bakteri *Escherichia coli* yang menghasilkan gelembung ketika bakteri dioleskan pada  $H_2O_2$  (Gambar 2B) yang menandakan bahwa bakteri *E.coli* merupakan bakteri katalase positif dan menghasilkan enzim katalase (El-Hadedy dan El-Nour, 2012).



Gambar 2. Hasil uji katalase isolat BAL katalase negatif (A) dan *Escherichia coli* sebagai kontrol katalase positif (B).

#### Uji Ketahanan Asam

Seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2 kemampuan bertahan hidup dan kecepatan tumbuh dari isolat BAL berbeda sesuai dengan lama inkubasi pada keasaman yang tinggi. Semakin lama waktu inkubasi pada pH rendah maka kemampuan bertahan hidup dan kecepatan tumbuh bakteri pada media MRSA semakin berkurang. Perbandingan antara kontrol yang tidak diinkubasi pada pH 3 dan yang diberi perlakuan terlihat dari segi kecepatan tumbuh dan kemampuan bertahan hidup isolat ketika ditumbuhkan pada media MRSA. Dapat diamati bahwa BAL kontrol tumbuh dengan baik selama lima hari pengamatan dari segi jumlah

koloni dan kecepatan tumbuh, sementara isolat yang diberi perlakuan pada pH 3 memberikan hasil yang berbeda. Pada hari pertama pengamatan, terdapat koloni yang tumbuh pada perlakuan 1 namun jumlah koloni yang tumbuh sangat sedikit dan memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan kontrol. Pada hari pertama, perlakuan 2 dan perlakuan 3 belum bertumbuh. Pada hari kedua pengamatan, perlakuan 1 diamati ukuran koloni semakin membesar, pada perlakuan 2 mulai terlihat beberapa koloni bertumbuh dibagian tengah petri namun jumlahnya hanya sedikit, dan perlakuan 3 masih belum ada koloni yang bertumbuh. Pada hari ketiga pengamatan, terlihat jumlah koloni yang tumbuh pada perlakuan 1 semakin banyak sementara perlakuan 2 dan 3 tidak terdapat perbedaan. Pada hari keempat pengamatan tidak terdapat perbedaan dari ketiga perlakuan, dan pada hari kelima pengamatan tidak terdapat perbedaan pada perlakuan 1 dan 2 namun terlihat koloni mulai tumbuh pada perlakuan 3.

Menurut Papadimitriou et al. (2016), BAL relatif toleran terhadap pH yang rendah. Untuk dapat dijadikan sebagai probiotik, maka BAL harus mampu bertahan pada pH rendah, karena keasaman lambung berkisar antara pH 2,0-4,0 diakibatkan oleh produksi HCl. Akan tetapi, akan terdapat kerusakan sel dan penurunan viabilitas pada bakteri yang terpapar pH rendah sehingga penurunan jumlah koloni dapat terjadi (Susanti et al., 2007). Bakteri asam laktat dapat bertahan pada kondisi lingkungan dengan pH rendah karena memiliki mekanisme untuk mempertahankan kondisi pH di dalam selnya, yaitu lebih netral dibandingkan dengan pH di lingkungan (Halim, 2013).

Tabel 2. Hasil uji ketahanan isolat BAL hasil fermentasi kubis merah terhadap pH 3.

Perlakuan	Pengamatan				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Tanpa HCl (Kontrol)	+++	+++	+++	+++	+++
Inkubasi Jam HCl	1 +	+	++	++	++
Inkubasi Jam HCl	2 -	+	+	+	+
Inkubasi Jam HCl	3 -	-	-	-	+

Keterangan:

- +++ : Kecepatan tumbuh dan kemampuan bertahan hidup isolat tinggi
- ++ : Kecepatan tumbuh dan kemampuan bertahan hidup isolat sedang
- +
- : Isolat tidak tumbuh

---

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri asam laktat hasil fermentasi kubis merah dapat bertahan pada pH 3.

of selected commercially available cruciferous vegetables. *Mal. J. Nutr.* 13(1):71-80.

---



---

#### Daftar Pustaka

- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J.C., Gerds, M.L., Hammes, W.P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I.B., Prajapati, J.B., Seto, Y., Schure, E.T., Van Boven, A., Vankerckhoven, V., Zgoda, A., Tuijtelaars, S., Hansen, E.B. 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *Int.J. Food Microb.* 154(3):87-97. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030.
- Bron, P.A., Marco, M., Hoffer, S.M., Mullekom, E.V., de Vos, W.M., Kleerebezem, M. 2004. Genetic characterization of the bile salt response in *Lactobacillus plantarum* and analysis of responsive promoters in vitro and in situ in the gastrointestinal tract. *J. Bacteriol.* 186: 7829-7835.
- El-Hadedy, D., El-Nour, S.A. 2012. Identification of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from Egyptian food by conventional and molecular methods. *J. Gen. Eng. Biotech.* 10(1):129-135.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 1998. Fermented Frutis and Vegetables : A Global Perspective. Fao Agricultural Services Bulletin No. 134. Rome. Italy.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5):365-378.
- Halim, C.N., Zubaidah, E. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Ekspolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 1(1):129-137.
- Karthikeyan, V., Santosh, S.W. 2009. Isolation and Partial Characterization of Bacteriocin Produced from *Lactobacillus plantarum*. *African Journal of Microbiology Research.* 3(5):233-239.
- Ljungh, A., Wadström, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr. Issues. Intest. Microbiol.* 7(2):73-89.
- Ooi, L.G., Min Tze, L. 2010. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics : A review of in vivo and in vitro findings. *Int.J.Mol.Sci.* 1(1): 2499-2522.
- Susanti, I., Retno, W.K., Fatim, I. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*, Vol XVIII No.2 Th. 2007.
- Vasiljevic, T., Shah, N.P. 2008. Probiotics –from Metchnikoff to bioactive. *International Dairy Journal* 18: 714-728.
- Yee, L.W., Ikram, E.H.K., Jalil, A.M.H., Ismail, A. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content