

Review Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Bekasam Ikan Tuna

Review of the Characterization of Lactic Acid Bacteria in Tuna Fish

Siti Malikha¹

¹Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Institut Agama Islam Negeri Cirebon
Jl. Perjuangan, Sunyaragi, Kec. Kesambi, Kota Cirebon, Jawa Barat 45132

*Correspondent Author: sitimalikha2127@gmail.com

ABSTRACT

Bekasam is a type of fermented freshwater fish product with sour taste. Bekasam is made from fish that have been cleaned gills and entrails, washed, mixed with salt. After 2 days of fermentation, rice is added to this mixture and fermentation is continued for 5 to 7 days. Bekasam is thought to have antihypertensive activity due to the formation of bioactive peptides resulting from fish protein degradation during the fermentation process of the scars. This study aims to isolate indigenous lactic acid bacteria with high power. Lactic acid bacteria were isolated from tuna. Isolation was carried out using MRS agar + CaCO₃ medium and screening of proteolytic lactic acid bacterial isolates was carried out using skim agar. Colonies that provide a clear zone on the skim to be identified as lactic acid bacteria. Of the 180 isolates of acid-producing bacteria that provide clear zones in the MRS to find 150 strains of lactic acid bacteria. The results of further morphological and biochemical tests indicate that these isolates are genera *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Leuconostoc*. The results of further selection were carried out on homofermentative lactic acid bacteria and had high proteolytic activity. The results of identification of isolate species using API CH50 showed that selected lactic acid bacteria were *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, and *Pediococcus pentosaceus*.

Keywords : Proteolytic Lactic Acid Bacteria, Scars, Fish Fermentation

ABSTRAK

Bekasam adalah suatu jenis produk fermentasi ikan air tawar dengan rasa asam. Bekasam terbuat dari ikan yang telah dibersihkan insang dan isi perutnya, dicuci, dicampur dengan garam. Setelah 2 hari fermentasi, pada campuran ini ditambahkan nasi dan fermentasi dilanjutkan hingga 5 sampai 7 hari. Bekasam diduga mempunyai aktivitas antihipertensi karena terbentuknya peptida bioaktif hasil degradasi protein ikan selama proses fermentasi bekasam. Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri asam laktat indigenous bekasam yang mempunyai daya tinggi. Bakteri asam laktat diisolasi dari ikan tuna. Isolasi dilakukan dengan menggunakan medium MRS agar + CaCO₃ dan *screening* isolat bakteri asam laktat proteolitik dilakukan menggunakan skim agar. Koloni yang memberikan zona jernih pada skim agar diidentifikasi sebagai bakteri asam laktat. Dari 180 isolat bakteri penghasil asam yang memberikan zona jernih pada MRS agar ditemukan 150 strain bakteri asam lakta. Hasil pengujian lebih lanjut secara morfologi dan biokimiawi menunjukkan bahwa isolat-isolat ini merupakan genus *Lactobacillus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Hasil seleksi lebih lanjut dilakukan terhadap bakteri asam laktat homofermentatif dan mempunyai aktivitas proteolitik tinggi. Hasil identifikasi spesies isolat menggunakan API CH50 menunjukkan bakteri asam laktat terpilih adalah *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, dan *Pediococcus pentosaceus*.

Kata Kunci : Bakteri Asam Laktat Proteolitik, Bekasam, Fermentasi Ikan.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu organisme yang memfermentasi bahan pangan melalui fermentasi karbohidrat dan umumnya menghasilkan sejumlah besar asam laktat. Bakteri ini memberikan kontribusi yang cukup besar terhadap perbaikan flavour, tekstur, dan masa simpan produk fermentasi. BAL mempunyai distribusi yang luas dan kemampuan tumbuh pada berbagai substrat organik dan kondisi seperti kondisi asam, basa, suhu rendah, suhu tinggi, kadar garam tinggi, anaerob, sehingga menjadikan bakteri asam laktat sebagai kompetitor yang tangguh di semua sektor pengolahan pangan (Daulay, 1991). Bakteri ini banyak terdapat pada bahan makanan, baik mentah maupun olahan. Pada umumnya, bakteri asam laktat ditemukan dalam bahan makanan fermentasi.

Dalam produk fermentasi, bakteri asam laktat sering ditemukan sebagai mikroflora dominan yang dapat menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Aktivitas bakteri asam laktat berkaitan dengan adanya produksi asam organik (asam laktat, asam asetat dan asam format), hidrogen peroksida dan bakteriosin (Tramer, 1966; Dahiya dan Speck, 1968; Schved *et al.*, 1992).

Bekasam adalah suatu jenis produk fermentasi ikan air tawar dengan rasa asam, terutama dikenal di Sumatra Selatan dan Kalimantan Tengah (Rahayu *et al.*, 1992). Proses pembuatan bekasam dilakukan dengan penambahan garam dan nasi sebagai sumber karbohidrat, kemudian fermentasi dilakukan dalam wadah dari tanah (Rahayu *et al.*, 1992; Indriati *et al.*, 1999).

Bakteri asam laktat mempunyai sifat antibakterial. Piard dan Desmazeaud (1991) menyatakan bahwa selama proses fermentasi berlangsung, bakteri asam laktat menghasilkan komponen seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Berdasarkan spektrum aktivitasnya, bakteriosin dapat dibedakan menjadi 2 jenis. Jenis pertama merupakan bakteriosin dengan spektrum aktivitas yang sempit, mempunyai efek mematikan terhadap organisme yang mempunyai hubungan dekat. Jenis kedua adalah bakteriosin yang menghambat bakteri gram positif dengan spektrum yang lebih luas (Daeschel, 1989). Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi bakteri asam laktat pada Bekasam ikan tuna dan untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari ikan tuna.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Bekasam

Bekasam dibuat dari tuna yang masing-masing dibeli dari ikan yang segar, dicuci dengan bersih, dan dibersihkan dari insang dan isi perut, selanjutnya sebanyak ± 500 g ikan tuna dicampur dengan garam 10% dan diinkubasi dalam wadah plastik tertutup selama 48 jam pada suhu ruang. Proses selanjutnya adalah penambahan nasi dengan perbandingan ikan dan nasi dengan takaran yang sama dan proses inkubasi dilanjutkan dalam wadah plastik tertutup sampai 7 hari pada suhu ruang. Analisis yang dilakukan adalah isolasi bakteri asam laktat, karakteristik dan identifikasi.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi dilakukan dari sampel ikan tuna jenis bekasam pada hari ke 3 sampai hari ke 7 fermentasi dari 2 ulangan. Dari setiap sampel diambil 5 koloni yang memberikan zona jernih pada medium MRS dan CaCO_3 dari metode *poured plate*, sehingga didapatkan 180 isolat. Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate* pada medium yang sama. Koloni tunggal hasil *streak plate* selanjutnya dilihat pada mikroskop dengan pembesaran 400x untuk dilihat morfologi kultur. Kultur murni ditandai dengan morfologi yang seragam (bulat, batang, pembentukan tetrad, tunggal, berpasangan, berantai). Terhadap isolat hasil pemurnian selanjutnya dilakukan pengujian bakteri asam laktat dilakukan dengan pengujian Gram, katalase, motilitas, ada tidaknya spora. Bakteri asam laktat adalah bakteri yang menunjukkan ciri gram (+), katalase (-), non motil dan tidak membentuk spora. Penyimpanan isolat dilakukan dengan cara menyimpan kultur yang berumur 24 jam pada medium MRS dan gliserol 20% (1:1) pada suhu -60°C .

Karakterisasi dan Identifikasi Spesies Isolat Bakteri Asam Laktat

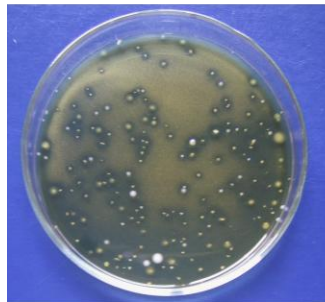
Karakterisasi genus isolat bakteri asam laktat dilakukan pada isolat yang mempunyai aktivitas relatif tinggi

($R \geq 1,5$) selanjutnya diuji karakteristik biokimiawinya dengan pengujian pertumbuhan pada berbagai suhu, pH dan kadar garam serta uji pembentukan gas hasil fermentasi glukosa. Pengujian dilakukan dengan melihat pertumbuhan isolat pada medium MRS *broth* pada berbagai kondisi yang ditentukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat

diawali dengan isolasi bakteri asam laktat. Dari total 180 koloni bakteri yang memberikan zona jernih pada medium MRS dan CaCO_3 , didapatkan sebanyak 55 isolat yang menunjukkan ciri bakteri asam laktat yaitu 55 isolat dari bekasam tuna. Contoh isolat penghasil zona jernih pada medium MRS dan CaCO_3 seperti Gambar 1. Terhadap seluruh isolat bakteri asam laktat selanjutnya dilakukan pengujian bakteri asam laktat yang mempunyai aktivitas proteolitik yang ditunjukkan.



Gambar 1. Koloni bakteri pembentuk zona jernih medium MRS + CaCO_3 pada pengenceran dan *plating*10

Pada bekasam nila ditemukan bakteri asam laktat yang mempunyai aktivitas proteolitik sebanyak 64,2% (27 dari 42 isolat bakteri asam laktat), pada bekasam bandeng dan bekasam tuna masing-masing ditemukan sebanyak 62,26% (33 dari 53 isolat bakteri asam laktat), dan 43,63% (24 dari 55 isolat bakteri asam laktat). Jika dilihat dari aktivitas proteolitik ditinjau dari ukuran rasio zona jernih (R), maka jumlah isolat yang menunjukkan aktivitas proteolitik tinggi ($R \geq 1,5$) lebih sedikit dibandingkan isolat bakteri dengan $R \leq 1,5$. Berdasarkan besarnya nilai R menandakan bahwa kemampuan proteolitik isolat bakteri asam laktat sangat beragam diantara level genus maupun strain pada spesies yang sama. Pada *plara* diketahui bahwa aktivitas proteolitik sangat beragam, ditemukan R sebesar 1,66 untuk genus *Pediococcus*, akan tetapi juga ditemukan R yang sama 1,66 pada genus *Lactobacillus*, sedangkan strain *Lactobacillus* yang lain mempunyai $R = 2,71$ (Vichasilp *et al.*, 2008).

Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat dan Karakteristik

Identifikasi strain bakteri asam laktat proteolitik hanya dibatasi pada bakteri asam laktat proteolitik yang mempunyai $R \geq 2,00$ dan tidak menghasilkan gas. Pemilihan isolat ini didasarkan pada penerapan isolat untuk menghasilkan peptida antihipertensi, yang pada penelitian ini baru dibatasi pada bakteri asam laktat proteolitik tinggi dan homofermentatif. Terpilih 6 isolat yaitu 5 isolat N2352; B2555; B1765; T2565, B1465 dari genus *Lactobacillus* dan 1 isolat B1661 dari genus *Pediococcus*. Genus *Leuconostoc* tidak masuk dalam kategori isolat terpilih karena sifatnya yang heterofermentatif, walaupun ada yang menunjukkan nilai $R \geq 2,00$.

Isolat terpilih selanjutnya diidentifikasi spesiesnya dengan diuji kemampuannya dalam memfermentasi berbagai jenis karbohidrat dan derivatifnya menggunakan perangkat API CH 50. Pengujian dengan API CH 50 dilanjutkan analisis dengan software apiwebTM data base V5,1 menunjukkan bahwa *Lactobacillus* terpilih memberikan kemiripan dengan *L. plantarum* sebanyak 4 isolat yaitu *L. plantarum* N2352, *Lactobacillus plantarum* B1765, *L. plantarum* T2565, *Lactobacillus plantarum* B1465 dan 1 isolat menunjukkan kemiripan *L. pentosus*, yaitu *L. Pentosus* B2555. Spesies *L. plantarum* dan *L. pentosus* ini mempunyai kemiripan karakteristik, kecuali perbedaan dalam menghasilkan asam dari D-xylosa, D-melizitosa, metil- α Dmannopiransida, metil- α D-glukopiranosida, dan gliserol.

Hasil penelitian ini didukung oleh beberapa penelitian sebelumnya. Terkait dengan bahan dasar ikan maka didapatkannya *L. plantarum* sesuai dengan penelitian bahwa spesies ini adalah spesies yang mayoritas tumbuh ikan

dan udang (Nair dan Puthuvalil, 2005). *L. plantarum* ditemukan dalam usus beberapa jenis ikan air tawar (Scorta 2007). *Pediococcus pentosaceus* ditemukan diantara isolat yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan laut (Buntin *et al.*, 2008). Terkait dengan produk-produk ikan fermentasi maka hasil ini juga didukung oleh penemuan-penemuan sebelumnya. Pada produk fermentasi ikan “plasom” ditemukan bakteri asam laktat *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. pentosus*, *L. reuteri* (Panthavee *et al.*, 2007). Pada beberapa produk ikan fermentasi Thailand dijumpai bakteri asam laktat jenis *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. farciminis*, *L. spp*, dan *Leuconostoc* (Tanapasuwat dan Komagata 1988). Christine *et al.* (2002), menemukan *Leuconostoc*, *L. curvatus*, *L. lactis* adalah bakteri asam laktat yang tumbuh pada awal proses fermentasi “somfak”, diikuti oleh pertumbuhan *L. casei*, *L. pentosus* dan *L. plantarum*. Pada beberapa produk ikan fermentasi dari India ditemukan jenis *L. lactis*, *E. faecium*, *L. coryniformis*, *L. plantarum* (Thapa *et al.*, 2004).

Ditemukannya spesies *L. plantarum* sebagai salah satu isolat yang mempunyai aktivitas proteolitik juga ditunjukkan oleh beberapa penelitian (Cagno *et al.* 2002; Basso *et al.* 2004; Fadda *et al.* 1998). Aktivitas proteolitik *Pediococcus pentosaceus* ditemukan pada *plasma* (Vichasilp *et al.*, 2008), dan pada sosis (Dalmis dan Soyer, 2008). Hasil penelitian tentang sifat-sifat biokimia bakteri asam laktat dari makanan fermentasi di Asia Tenggara menunjukkan bahwa *E. faecalis*, *E. lactis*, *L. mesenteroides*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, adalah bakteri asam laktat yang mempunyai aktivitas proteolitik (Ohhira dan Iichiroh, 1999).

SIMPULAN

Dari 180 isolat bakteri pembentuk asam, ditemukan 55 strain bakteri asam laktat, Hasil *screening* dan identifikasi lebih lanjut tentang jenis spesies pada bakteri asam laktat terpilih ($R \geq 2,0$ homofermentatif) dihasilkan 6 isolat dari strain *L. plantarum* 1 yaitu *L. plantarum* N2352, *L. plantarum* B1765, *L. Plantarum* T2565, *L. plantarum* B1465 dan 1 isolat menunjukkan kemiripan *L. pentosus*, yaitu *L. pentosus* B2555, dan *Pediococcus pentosaceus* B1666.

DAFTAR PUSTAKA

- Buntin, N., Suphitchaya, C., Tipparat, H., Songklanakari, 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracks of marine fish for their potensial use as probiotics. J Sci Technol, 30(1): 141-148.
- Cagno, R.D., Angelis, M.D., Lavermicocca, P., Vicenzi, M.D., Giovannini, C., Faccia, M., Gobetti, M., 2002. Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: Effect on wheat flour protein fraction and gliadin peptide involved in human cereal intolerance. Appl Environ Microb, 68(2): 623-633.
- Christine, P.M., Mette, M., Pairat, C., Lone, G., Peter, L.M., 2002. Fermentation and microflora of *plasma*, a thai fermented fish product prepared with different salt concentration. Int J Food Microbiol, 73(1): 61-70.
- Daeschel, M.A., 1989. Antimicrobial substances of lactic acid bacteria for use of food preservation. Food Technology, 43: 164-166.
- Dalmis, U & Soyer, A., 2008. Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in turkish sausage (sucuk) during ripening and storage. Meat science, 80(2): 345-354.
- Daulay, D., 1991. Fermentasi Asam Laktat dalam Pengolahan Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB.
- Nair, P.S., Puthuvalil, K.S., 2005. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from fish and prawn. J Cult Collect, (4): 48-52.
- Ohhira, Iichiroh., 1999. Distribution and biochemical properties of lactic acid bacteria from traditional fermented food in south east asia. Research Paper. Symposium on Oral Recurrent Aphthous Ulceration, Epidemiology, Clinicopathology and Management. Faculty of Dentistry, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Panthavee, W., Pramuan, S., Nasakom, W., 2007. Identification and evaluation of lactic acid bacteria for *plasma* (Fermented Fish) starter. Abstract The 2nd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. Thailand
- Piard, J.C., M.I. Desmazeaud., 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism endproducts. J. App. Bacteriol, 71: 525-541

- Rahayu, W.P., Fardiaz., Ma'oan, S., Suliantari, S.,** 1992. Teknologi Fermentasi Produk Perikanan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ray, B., R.A Field.,** 1992. Antibacterial effectiveness of a pediocin AcH based biopreservative againsts spoilage and pathogenic bacteria from vacuum packaged refrigerated meat processings: 38th International Congress of Meat Science and Technology: Clermont-Ferrand, France. 4: 731-734.
- Scorta., Nicodemus.,** 2007. Characterization of lactic acid bacteria from freshwater intestine. *Thesis*. Jakarta: Universitas Katolik Atmajaya
- Tanapasuwat, S., Komagata, K.,** 1995. Lactic acid bacteria in fermented foods in thailand. *World J Microb Biot* 11(3): 253-256.
- Thapa, N., Joydep, P., Iyoti, P.T.,** 2004. Microbial diversity in ngari, hentak and tungtap, fermented fish product of northeast india. *World J Microb Biot*, 20(6): 599-607.
- Tramer, J.,** 1966. Inhibitory effect of *Lactobacillus acidophillus*. *Nature*. 10: 204-211.
- Vichasilp, C., Sangjindavon. M., Wiliapun, P.,** 2008. The use of selected lactic acid bacteria isolates for accelaration of fermented fish (Pla-ra) process. *Kasetsart University Fisheries Research Bulletin*, 32(3): 17-25.
- Widayanti, Ratna, I., Laras, R.,** 2015. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Mutu “Bekasam” Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Indonesia Journal of Fisheries Science and Technology*, 10(2): 199-124