

## Optimalisasi Konsentrasi Pepton Ikan Pada Media Kultur terhadap Pertumbuhan Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3

### *Optimization of Peptone Concentration from Fish in Culture Media on the Growth of Probiotic Lactiplantibacillus plantarum Kita-3*

Made Ayu Shintya Dewi<sup>1</sup>, Komang Ayu Nocianitri<sup>\*1</sup>, Sayi Hatiningsih<sup>1</sup>, Endang Sutriswati  
Rahayu<sup>2</sup>, Intan Rahmayanti<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus  
Bukit Jimbaran, Badung, Bali

<sup>2</sup>Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknik Utara, Sleman, Daerah  
Istimewa Yogyakarta

<sup>3</sup>PT. Royal Medicalink Pharmed, Jl. Daeng Tata Raya No. 37 B-C Ruko Tata Griyatama, Makassar,  
Sulawesi Selatan

\*Penulis korespondensi: Komang Ayu Nocianitri, Email: [nocianitri@unud.ac.id](mailto:nocianitri@unud.ac.id)

Diterima: 6 juni 2024 / Disetujui: 15 juli 2024

#### Abstract

Culture media are essential for providing nutrients that support the growth of probiotic bacteria. Reducing the concentration of substrates like peptone can lower production costs, but it may also slow down the growth of the probiotic bacteria. This study aims to optimize the concentration of fish peptone as a nitrogen source in culture media and determine the most efficient concentration for supporting the growth of the probiotic *L. plantarum* Kita-3. A Completely Randomized Design (CRD) was employed, with peptone concentrations (12,5%, 18,75%, 25%) as treatment factors. Each treatment was repeated twice, resulting in six experimental units. Descriptive analysis was used for data examination, while total LAB was analyzed using the non-parametric Kruskal-Wallis statistical method. The Mann-Whitney test was conducted if significant effects ( $P < 0.05$ ) were detected among treatments. Results indicated that the peptone concentration from fish did not significantly affect ( $P > 0.05$ ) the growth of *L. plantarum* Kita-3. The optimal concentration of fish peptone for supporting the growth of *L. plantarum* Kita-3 was determined to be 12,5%, with a final incubation pH of 3,87, final total LAB of 9,05 log cfu/ml, probiotic powder weight of 5,20 gr, and total LAB in the probiotic powder reaching 11,28 log cfu/gr.

**Keywords:** *probiotic powder, fish, peptone concentration from fish, Lactiplantibacillus plantarum Kita-3*

#### PENDAHULUAN

Menurut FAO/WHO (2002), probiotik merujuk pada mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan ketika dikonsumsi dalam jumlah yang mencukupi. Probiotik umumnya berasal dari jenis bakteri asam laktat (BAL), seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, yang sering digunakan dalam berbagai produk fermentasi (Gibson *et al.*, 2017). Salah satu bakteri probiotik lokal

adalah *Lactiplantibacillus plantarum subsp plantarum* Kita-3 yang diisolasi dari keju Halloumi yang diproduksi oleh PT. Mazaraat Artisan Cheese di Yogyakarta. Bakteri ini terbukti memiliki sifat probiotik, termasuk ketahanan terhadap pH lambung dan garam empedu, non-patogenik, serta memiliki aktivitas antibakteri (Ratna *et al.*, 2020). Salah satu tantangan yang dihadapi dalam pengembangan probiotik adalah memastikan

mikroorganisme tersebut tetap hidup dalam produk yang dikonsumsi oleh manusia. Adib *et al.* (2013) menyatakan bahwa viabilitas bakteri pada produk probiotik setidaknya mengandung  $10^7 - 10^9$  cfu/gr untuk mendapatkan manfaat kesehatannya.

Media pertumbuhan yang digunakan dalam kultivasi bakteri probiotik memiliki peranan penting untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Media pertumbuhan mengandung sumber karbon, nitrogen, vitamin, dan mineral (Ayu, 2017). Nitrogen menjadi penyusun kedua terbesar sel bakteri (12–15% berat kering), setelah penyusun utama, karbon (50–53% berat kering) (Stanbury *et al.*, 1995). Saat ini, *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) adalah media pertumbuhan yang paling umum digunakan dalam kultivasi BAL (Pal *et al.*, 2010). Namun, penggunaan media MRS dalam skala industri dianggap kurang efisien karena harganya yang relatif mahal dan masih belum terjamin kehalalannya.

Pepton merupakan sumber nitrogen dalam media pertumbuhan BAL, dihasilkan melalui proses hidrolisis protein dari berbagai bahan pangan menggunakan enzim (Saputra & Nurhayati, 2013). Pepton mengandung protein sekunder seperti polipeptida, dipeptida, dan asam amino yang digunakan oleh BAL untuk pertumbuhannya (Kane *et al.*, 2016). Pepton umumnya berasal dari sumber hewani seperti daging sapi atau babi, namun produksinya masih menghadapi kendala terkait dengan aspek keagamaan dan

risiko kesehatan (Trivedi *et al.*, 2015). Sebagai alternatif, limbah perikanan dapat digunakan sebagai sumber pepton dalam media pertumbuhan BAL. Bubuk ikan yang diperoleh dari limbah ekstraksi albumin ikan dipilih sebagai alternatif sumber pepton karena masih mengandung protein tersisa yang tinggi mencapai 81,86% dan kandungan nitrogen terlarut sebesar 0,45 gr/100 ml (Suryani, 2023). Penggunaan bubuk ikan ini efisien dalam memanfaatkan limbah dan menyediakan sumber nitrogen dalam media pertumbuhan BAL.

Optimalisasi bahan baku dalam industri sangat penting untuk meningkatkan efisiensi. Penurunan konsentrasi pepton dapat mengurangi biaya produksi, namun juga berpotensi memperlambat pertumbuhan BAL karena kurangnya nutrisi substrat yang dibutuhkan untuk metabolisme (Coelho *et al.*, 2011; Hayek & Ibrahim, 2013; Yuniarti *et al.*, 2013). Penelitian oleh Ayad *et al.* (2020) melaporkan bahwa penambahan nitrogen pada konsentrasi tertentu tidak memberikan perbedaan signifikan terhadap jumlah sel pada akhir fermentasi. Sementara Horn *et al.* (2005) melaporkan bahwa penggunaan 5 gr/L pepton jeroan ikan menghasilkan biomassa sel *L. plantarum* yang setara dengan media MRS. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan konsentrasi pepton ikan dalam media kultur yang paling efisien untuk memberikan pertumbuhan optimal bagi sel probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3.

## METODE

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, buah nanas muda (*Ananas comosus* L. Merr) yang diperoleh dari Pasar Kranggan, bubuk ikan yang diperoleh dari PT. Royal Pharmed Medicalink, *yeast extract* (NuCel), sukrosa (Gulaku), air mineral, isolat murni *L. plantarum* Kita-3 yang diperoleh dari *Food and Nutrition Culture Collection*, Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, MRS broth (Merck), agar *bacteriological* No.1 (Oxoid), CaCO<sub>3</sub> (Merck), *aquadest*, NaCl 0,85%, susu skim (Laktosa) dan sukrosa (Gulaku).

### Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *laminar air flow* (Gelaire Flow), autoklaf (Hirayama HVE-50), erlenmeyer (Pyrex), pH meter (APERA ZenTest PH60S-Z), spektrofotometer UV-VIS (SHIMADZU UV-1280), mikro pipet (Dragon Lab), *blue tip* (OneMed), *yellow tip* (OneMed), cawan petri (OneMed), tabung *conical* (Biologix), inkubator (Sanyo MIR-262), tabung duran (Duran), timbangan analitik (Mettler), gelas ukur (Pyrex), gelas *beaker* (Pyrex), *refrigerated centrifuged* (Beckman J-6B), *freezer* (GAI), *freeze dryer* (Edward Modulyo), *water bath* (Haake SWB), *vortex mixer* (VM-300), *magnetic stirrer* (IKA), *juicer* (Cosmos cj 388), bunsen, plastik zip, *aluminium foil*, botol sentrifugasi, jar kaca,

kain saring, kapas, talenan, pisau, panci, dan tisu.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi pepton ikan yang terdiri dari 3 taraf, yaitu PE1 (12,5%), PE2 (18,75%), PE3 (25%). Masing-masing percobaan diulang sebanyak 2 kali sehingga diperoleh 6 unit percobaan.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Pembuatan Pepton Ikan

Pembuatan pepton ikan diawali dengan produksi enzim bromelin kasar. Buah nanas muda terlebih dahulu dikupas kulitnya, dihilangkan bagian matanya, kemudian dipotong memanjang. Buah nanas tersebut lalu diesktraksi menggunakan *juicer* untuk mendapatkan enzim bromelin kasarnya. Volume hasil ekstraksi nanas diukur dan selanjutnya digunakan dalam proses hidrolisis bubuk ikan.

Proses hidrolisis bubuk ikan diawali dengan mencampur bubuk ikan dan enzim bromelin kasar dengan perbandingan 1:10. Campuran bromelin kasar dan bubuk ikan ditambahkan air mineral dengan perbandingan 1:4 kemudian diaduk sambil dipanaskan pada suhu sekitar 60°C selama 3 jam. Hasil hidrolisis selanjutnya disaring menggunakan dua lapis kapas dan kain saring (*double-layered cheese cloth*). Pepton hasil hidrolisis disimpan pada suhu beku (-20°C).

#### Pembuatan Larutan Cryoprotectant

Larutan *cryoprotectant* dibuat dari campuran 10% skim (b/v) dan 1% sukrosa (b/v). Kedua bahan dicampur dalam gelas *beaker* dan diencerkan dengan penambahan air hingga mencapai volume 1 L dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan *cryoprotectant* kemudian disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit.

#### **Peremajaan Kultur Starter**

Media pre-starter dan media starter standar untuk peremajaan kultur dibuat dengan mencampurkan sebanyak 3% sukrosa, 1,5% (b/v) *yeast extract*, dan 25% (v/v) pepton ikan ke dalam 70,5 ml air. Campuran dihomogenkan lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

Sebanyak 0,05 ml stok kultur beku *L. plantarum* Kita-3 diinokulasikan dalam 5 ml media pre-starter standar, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Kultur yang telah tumbuh dalam media pre-starter, diambil sebanyak 1,5 ml dan diinokulasi ke 150 ml media standar steril, lalu Inkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C.

#### **Pembuatan Media Kultur dengan Variasi Konsentrasi Pepton Ikan**

Media kultur dibuat dengan mencampurkan 3% (b/v) sukrosa, 1% (b/v) *yeast extract*, pepton ikan sesuai perlakuan (12,5%, 18,75%, dan 25%). Masing-masing perlakuan kemudian diencerkan hingga volumenya mencapai 1 L. Media kultur dipindahkan ke dalam botol kaca duran yang

selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

Sebanyak 10 ml kultur kerja diinokulasikan ke dalam media kultur sesuai dengan perlakuan konsentrasi pepton ikan, lalu diinkubasi selama 20 jam pada suhu 30°C.

#### **Produksi Bubuk Probiotik**

Kultur kerja yang telah dibiakkan dalam media pepton ikan dan diinkubasi selama 20 jam pada suhu 30°C, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu 4°C selama 6 menit, untuk memisahkan antara supernatan dan endapan sel. Supernatan dibuang, sementara endapan sel ditambahkan sebanyak 50 ml larutan *cryoprotectant* steril kemudian dihomogenkan dengan cara dikocok. Suspensi lalu dipindahkan ke dalam jar kaca dan disimpan pada *freezer* -40°C selama 24 jam. Suspensi beku selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* suhu -40°C, tekanan 0,1 mTorr selama 72 jam. Suspensi yang telah kering dihaluskan, lalu ditimbang dan dilakukan pengujian total BAL pada bubuk probiotik yang dihasilkan.

#### **Parameter yang Diamati**

Parameter yang diamati meliputi nilai pH dengan pH meter (Sudarmadji *et al.*, 1981), kurva pertumbuhan dengan metode *turbidity count* (Cappuccino & Sherman, 2011), dan total BAL dengan metode hitung cawan (Maturin & Peleer, 2001).

#### **Analisis Data**

Data penelitian berupa nilai pH dan absorbansi dianalisis secara deskriptif, sementara nilai total BAL dianalisis secara statistik non-parametrik, Kruskal-Wallis. Apabila terdapat pengaruh nyata antar perlakuan, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Derajat Keasamaan (pH) Media Kultur

Pengujian nilai pH media kultur dilakukan pada awal (jam ke-0) dan akhir (jam ke-20) inkubasi. Hasil analisis nilai pH dengan variasi konsentrasi pepton ikan ditunjukkan pada Tabel 1. Grafik penurunan pH yang diukur setiap 2 jam selama 20 jam inkubasi ditampilkan pada Gambar 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata pH media kultur dengan variasi konsentrasi pepton ikan pada awal inkubasi (jam ke-0) berkisar antara 5,89 hingga 5,96 dan nilai pH akhir inkubasi (jam ke-20) berkisar antara 3,87 hingga 3,99. Nilai pH terendah diperoleh pada perlakuan pepton ikan 12,5%, sementara nilai pH tertinggi pada perlakuan pepton ikan 25%. Nilai pH media menurun seiring meningkatnya waktu inkubasi. Hal ini karena adanya aktivitas BAL yang memecah gula dan menghasilkan senyawa-senyawa metabolit berupa asam organik yang dapat menurunkan pH (Lengkey & Balia, 2014; Afriani, 2010). Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi pepton ikan maka pH media akan semakin meningkat. Pepton ikan mengandung

beberapa asam amino yang memiliki kapasitas *buffering* untuk menjaga konsentrasi proton ( $H^+$ ) dalam larutan agar tetap stabil (Brown & Grimaud, 2023). Hal ini bermanfaat untuk melindungi sel bakteri dari kerusakan akibat perubahan pH yang ekstrim, sehingga mendukung produksi sel yang lebih optimal (Atilola *et al.*, 2015).

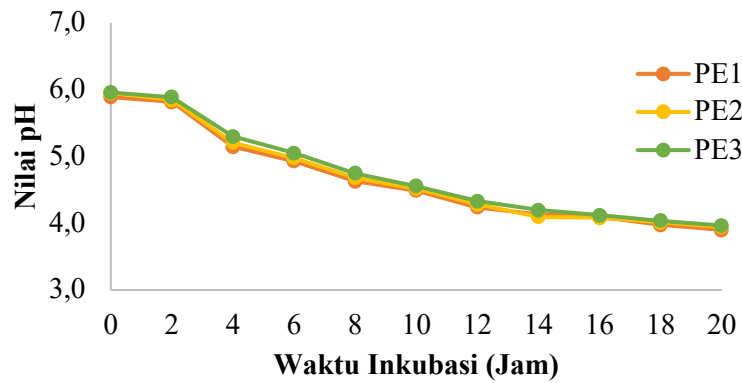
Selama fermentasi, BAL menggunakan asam amino ini sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan, sementara sebagian asam amino mengalami deaminasi, menghasilkan amonia ( $NH_3$ ). Amonia dapat bereaksi dengan air menghasilkan ion amonium ( $NH_4^+$ ) yang bersifat alkali/basa dan dapat meningkatkan pH media. Beberapa jenis *Lactobacillus* terbukti memiliki kemampuan untuk mensintesis asam amino melalui berbagai jalur, menghasilkan  $NH_3$  yang dapat mengurangi penurunan pH ekstraseluler (Papadimitriou *et al.*, 2016).

### Total BAL

Berdasarkan hasil analisis Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pepton ikan dalam media kultur tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap nilai total BAL pada awal inkubasi (jam ke-0) dan akhir inkubasi (jam ke-20). Rata-rata total BAL pada awal dan akhir inkubasi terendah terdapat pada perlakuan PE1 (12,5%) sebesar 6,70 log cfu/ml dan 9,05 log cfu/ml, sedangkan total BAL tertinggi diperoleh pada PE2 (18,75%) sebesar 6,71 log cfu/ml dan 9,58 log cfu/ml.

**Tabel 1. Nilai rata-rata pH media kultur dengan variasi konsentrasi pepton ikan pada awal (jam ke-0) dan akhir (jam ke-20) inkubasi**

Perlakuan	Nilai pH	
	Awal Inkubasi (Jam Ke-0)	Akhir Inkubasi (Jam Ke-20)
PE1	5,89 ± 0,09	3,87 ± 0,01
PE2	5,95 ± 0,04	3,92 ± 0,01
PE3	5,96 ± 0,02	3,99 ± 0,01

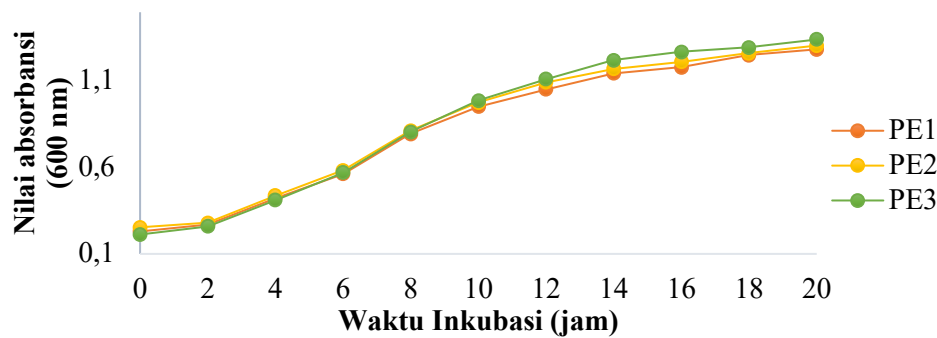


Gambar 1. Grafik Penurunan pH Media Kultur selama Inkubasi 20 Jam.

**Tabel 2. Nilai rata-rata total BAL media kultur dengan variasi konsentrasi pepton ikan pada awal dan akhir inkubasi**

Perlakuan	Log CFU/ml	
	Awal Inkubasi (Jam ke-0)	Akhir Inkubasi (Jam Ke-20)
PE1	6,70 ± 0,12 a	9,05 ± 0,02 a
PE2	6,83 ± 0,17 a	9,64 ± 0,18 a
PE3	6,71 ± 0,20 a	9,58 ± 0,12 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ )



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *L. plantarum* Kita-3

**Tabel 3. Nilai rata-rata total BAL dan berat bubuk probiotik**

Perlakuan	Total BAL bubuk (log cfu/gr)	Berat bubuk (gr)
PE1	11,28 ± 0,04 a	5,20 ± 0,06
PE2	11,75 ± 0,01 a	5,50 ± 0,13
PE3	11,80 ± 0,03 a	5,64 ± 0,05

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ )

Berdasarkan Tabel 2, total BAL pada setiap perlakuan konsentrasi pepton ikan mengalami peningkatan dari awal inkubasi (jam ke-0) hingga akhir inkubasi (jam ke-20). Peningkatan ini menunjukkan bahwa BAL mengalami pertumbuhan selama proses inkubasi. Menurut Azizah *et al.* (2012), BAL membutuhkan dua sumber nutrisi utama untuk pertumbuhannya, yaitu sumber karbon dan nitrogen. Sumber karbon digunakan sebagai energi dan sintesis asam laktat, sementara pepton ikan, sebagai sumber nitrogen, berperan dalam pembentukan biomassa sel (Safitri *et al.*, 2016).

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa pada akhir inkubasi (jam ke-20), nilai total BAL antar-perlakuan konsentrasi pepton ikan, meningkat pada perlakuan PE2 namun menurun pada PE3. Sumber nitrogen yang digunakan pada penelitian ini berasal dari pepton ikan dan *yeast extract*. Diduga kuat dua jenis nutrisi ini pada perlakuan konsentrasi pepton yang lebih rendah yaitu PE1 (12,5%) telah mencapai kondisi optimal untuk mendukung pertumbuhan *L. plantarum* Kita-3, sehingga konsentrasi pepton yang lebih tinggi tidak dapat lagi meningkatkan kecepatan pertumbuhan BAL karena sudah

mencapai titik jenuh. Pratiwi (2018) melaporkan bahwa konsentrasi substrat mempengaruhi aktivitas enzim. Penambahan konsentrasi substrat dapat meningkatkan aktivitas enzim, namun pada konsentrasi yang berlebihan, aktivitas enzim dapat menurun, mengakibatkan penurunan laju pertumbuhan (Lestari, 2013).

#### **Kurva Pertumbuhan**

Kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* Kita-3 pada penelitian ini didasarkan pada metode *turbidity count* yang mengukur absorbansi setiap 2 jam selama 20 jam dan ditentukan berdasarkan hubungan antara nilai absorbansi terhadap waktu inkubasi (Cappuccino & Sherman, 2011).

Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa fase adaptasi *L. plantarum* Kita-3 pada masing-masing perlakuan konsentrasi pepton ikan, terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-2 inkubasi. Hal ini ditandai dengan nilai densitas yang belum meningkat secara nyata. Populasi *L. plantarum* Kita-3 pada fase lag belum mengalami pertumbuhan signifikan karena sel sedang beradaptasi dengan lingkungan baru. Sel belum dapat melakukan pembelahan maupun memproduksi asam

laktat (Bannenber *et al.*, 2024; Madigan & Martinko, 2006). Lamanya fase lag bergantung oleh berbagai faktor, termasuk komposisi substrat, suhu, pH, jenis dan jumlah inokulum (Suprihatin, 2010; Augustin *et al.*, 2000).

Fase logaritmik atau eksponensial menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel terjadi dari jam ke-4 inkubasi sampai dengan jam ke-16 inkubasi. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan pada fase eksponensial adalah sifat dan bentuk mikroba, pH, kandungan nutrisi dalam media, dan suhu (Risna *et al.*, 2022; Rolfe *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan PE3 (25%) menghasilkan pertumbuhan BAL yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan PE1 (12,5%) dan PE2 (18,75%). Hal tersebut dikarenakan konsentrasi pepton yang digunakan pada perlakuan PE3 lebih banyak dibandingkan perlakuan PE1 dan PE2. Pepton, sebagai produk dari hidrolisis protein, mengandung sumber nitrogen organik esensial untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Saputra & Nurhayati., 2013).

Sel selanjutnya memasuki fase stasioner hingga inkubasi 20 jam, dimana jumlah sel *L. plantarum* Kita-3 yang ditumbuhkan dalam media kultur dengan variasi konsentrasi pepton ikan mencapai  $10^9$  cfu/ml. Fase stasioner ditandai dengan jumlah sel bakteri yang berhenti meningkat, dimana jumlah sel yang tumbuh seimbang

dengan jumlah sel yang mati (Kolter *et al.*, 1993; Bertrand, 2019).

### **Bubuk Probiotik *L. plantarum* Kita-3**

Bubuk probiotik diperoleh melalui proses pengeringan beku sel probiotik yang sebelumnya telah ditumbuhkan pada media kultur dengan variasi konsentrasi pepton ikan.

Berdasarkan hasil analisis Kruskal-Wallis, diketahui bahwa perlakuan konsentrasi pepton ikan dalam media kultur tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap total BAL pada bubuk probiotik. Hal ini sejalan dengan hasil analisis total BAL pada akhir inkubasi, sebelum sel dienkapsulasi (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa total BAL pada bubuk probiotik yang dihasilkan cukup tinggi mencapai  $10^{11}$  cfu/gr. Minelli & Benini (2009), melaporkan bahwa produk probiotik sebaiknya mengandung jumlah bakteri  $10^9$  cfu/gr untuk mendapatkan manfaat kesehatannya. Rata-rata berat bubuk probiotik yang dihasilkan berkisar antara 5,20 gr hingga 5,64 gr. Salah satu faktor yang mempengaruhi berat bubuk probiotik adalah jumlah sel yang dihasilkan pada akhir fermentasi (Virajayo, 2024). Penggunaan suhu rendah dalam produksi bubuk probiotik dengan *freeze drying* dapat menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, untuk mengatasi hal tersebut digunakan *cryoprotectant* yang dapat membentuk lapisan pelindung pada membran sel dan mengurangi pembentukan kristal es selama pembekuan (Kandil & El Soda, 2015;



Stefanello *et al.*, 2019). Studi lain menemukan bahwa *cryoprotectant* dari 10% susu skim dan 1% sukrosa dapat mengurangi penurunan jumlah sel menjadi kurang dari satu siklus log (Suryani 2023).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlakuan konsentrasi pepton ikan pada media kultur tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan *L. plantarum* Kita-3. Konsentrasi pepton ikan dalam media kultur yang paling efisien untuk mendukung pertumbuhan *L. plantarum* Kita-3 adalah 12,5% dengan karakteristik nilai pH akhir inkubasi (jam ke-20) sebesar 3,87, total BAL akhir inkubasi sebesar 9,05 log cfu/ml, total BAL dalam bubuk probiotik sebesar 11,28 log cfu/gr, dan berat bubuk probiotik 5,20 gr.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adib, A., Wahid, M. H., Sudarmono, P., Surono, I. S. (2013). *Lactobacillus plantarum* pada feses individu dewasa sehat yang mengonsumsi *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dari dadih. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), 154-161.
- Afriani. (2010). Pengaruh penggunaan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap total bakteri asam laktat, kadar asam dan nilai ph dadih susu sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 13(6), 279–285. <https://doi.org/10.22437/jiip.v0i0.114>.
- Atilola, O. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Ibrahim, S. A. (2015). Use of phytone peptone to optimize growth and cell density of *Lactobacillus reuteri*. *Foods*, 4(3), 318–327. <https://doi.org/10.3390/foods4030318>.
- Augustin, J. C., Brouillaud-Delattre, A., Rosso, L., Carlier, V. (2000). Significance of inoculum size in the lag time of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1706-1710. <https://doi.org/10.1128%2FAem.66.4.1706-1710.2000>.
- Ayad, A. A., Gad El-Rab, D. A., Ibrahim, S. A., Williams, L. L. (2020). Nitrogen sources effect on *Lactobacillus reuteri* growth and performance cultivated in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by-products. *Fermentation*, 6(64), 2-10. <https://doi.org/10.3390/Fermentation6030064>.
- Ayu, B. T. (2017). “Pengaruh jenis dan konsentrasi sumber nitrogen dalam media halal terhadap pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* Dad-13.” Skripsi. Universitas Gadjah Mada.
- Azizah, A. N., Baarri, S., Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioethanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Aplikasi Teknol Pangan*, 1(2), 72–77.
- Bannenberg, J. W., Boeren, S., Zwietering, M. H., Abee, T., den Besten, H. M. W. (2024). Insight in lag phase of *Listeria monocytogenes* during enrichment through proteomic and transcriptomic responses. *Food Research International*, 175, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113609>.
- Bertrand, B. L. (2019). Lag phase is a dynamic, organized, adaptive, and evolvable period that prepares bacteri for cell division: Minireview. *Journal of Bacteriology*, 201(7), 1-21. <https://doi.org/10.1128%2FJB.00697-18>.
- Brown, J., Grimaud, A. (2023). Proton donating and chemistry dependent buffering capability of amino acids for the hydrogen evaluation reaction. *Journal Physical Chemistry Chemical Physics*. 25(11), 8005-8012. <http://dx.doi.org/10.1039/D3CP00552F>.
- Cappuccino, J. G., Sherman, N. (2011). *Microbiology: A Laboratory Manual*. Benjamin Cummings.
- Coelho, L. F., De Lima, C. J. B., Bernardo, M. P., Contiero, J. (2011). D(-)-lactic acid production by *Leuconostoc mesenteroides* B512 using different carbon and nitrogen sources. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(7), 1160–1171. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9202-6>.
- FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*.

- Ferdaus, F., Wijayanti, M. O., Retnonigtyas, E. S., Irawati, W. (2008). Pengaruh pH, konsentrasi substrat, penambahan kalsium karbonat dan waktu fermentasi terhadap perolehan asam laktat dari kulit pisang. *Widya Teknik*, 7(1), 1–14. <https://dx.doi.org/10.33508/wt.v7i1.1256>.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.
- Hayek, S. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., Ibrahim, S. A. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *The Journal of dairy research*, 86(4), 490-502. <https://doi.org/10.1017/s002202991900075x>.
- Horn, S. J., Aspino, S. I., Eijsink, V. G. H. (2005). Growth of *Lactobacillus plantarum* in media containing hydrolysates of fish viscera. *Journal of Applied Microbiology*, 99(5), 1082–1089. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02702.x>.
- Kandil, S., El Soda, M. (2015). Influence of freezing and freeze drying on intracellular enzymatic activity and autolytic properties of some lactic acid bacterial strains. *Advances in Microbiology*, 05(06), 371–382. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.56039>.
- Kane, S. N., Mishra, A., Dutta, A. K. (2016). Preface: International Conference on Recent Trends in Physics (ICRTP 2016). In *Journal of Physics: Conference Series*, 755(1). Institute of Physics Publishing. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/755/1/011001>.
- Karim, M. I. A., Mel, M., Jamal, P., Salleh, M. R. M., Alamin, N. (2006). Media screening of lactic acid fermentation using *Lactobacillus rhamnosus*, 2(2), 203-210.
- Kolter, R., Siegel, D. A., & Tormo, A. (1993). The stationary phase of the bacterial life cycle. *Annual Review of Microbiology*, 47, 855–874. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.47.1001.93.004231>.
- Lengkey, H. A. W., & Balia, R. L. (2014). The effect of starter dosage and fermentation time on pH and lactic acid production. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30(2), 339–347. <http://dx.doi.org/10.2298/BAH1402339L>.
- Lestari, W., Agustien, A., Rilda, Y. (2013). Pengaruh konsentrasi inokulum dan induser terhadap produksi protease alkali *Bacillus* sp. Isolat MI.23 termofilik. *Jurnal Biologika*, 2(1), 34-39.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. (2006). *Brock: Biology of Microorganism*. Pearson Education Internationa.
- Maturin, L., Peeler, J. T. (2001). Aerobic Plate Count. In: *Bacteriological Analytical Manual*. Center for Food and Safety Applied Nutrition. Washington DC: US Food and Drug Administration.
- Minelli, E. B., & Benini, A. (2009). Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(4), 180-183. <https://doi.org/10.1080/08910600802408095>.
- Pal, A., Ramana, K. V., & Bawa, A. S. (2010). Simplification and optimization of deMan Rogosa Sharpe (MRS) medium for enhanced production of bacteriocin by *Weissella paramesenteroides* DFR-8. *Journal of food science and technology*, 47(3), 258–265. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0040-2>.
- Papadimitriou, K., Alegria, A., Bron, P. A., de Angelis, M., Gobetti, M., Kleerebezem, M., Lemos, J. A., Linares, D. M., Ross, P., Stanton, C., Turroni, F., van Sinderen, D., Varmanen, P., Ventura, M., Zúñiga, M., Tsakalidou, E., & Kok, J. (2016). Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 80(3), 837–890. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15>.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.
- Ratna, D. K., Evita, M. M., Utami, T., Cahyanto, M. N., Wikandari, R., & Rahayu, E. S. (2020). Indegeneous Lactic Acid Bacteria from Halloumi Cheese as A

- Probiotic Candidate of Indonesian Origin. *Manuskrip*.
- Risna, Y. K., Harimurti, Sari., Wihandoyo., Widodo. (2022). Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 24(1), 1-7. <https://dx.doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022>.
- Safitri, N., Sunarti, T. C., Meryandini, A. (2016). Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 31–38. [http://biologi.ipb.ac.id/jurnal/index.php/jsd\\_hayati](http://biologi.ipb.ac.id/jurnal/index.php/jsd_hayati).
- Saputra, D., Nurhayati, T. (2013). Produksi dan aplikasi pepton ikan selar untuk media pertumbuhan bakteri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 215–223. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8059>.
- Stanbury, P. F., Whitaker, A., Hall, S. J. (1995). “Media for Industrial Fermentations.” in *Principles of Fermentation Technology*. 2<sup>nd</sup>ed. Pergamon. ch. 4, pp. 93-122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-036131-4.50009-2>.
- Stefanello, R. F., Nabeshima, E. H., Iamanaka, B. T., Ludwig, A., Fries, L. L. M., Bernardi, A. O., Copetti, M. V. (2019). Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents. *Food Research International*, 115, 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.044>.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. (1981). *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Suprihatin. (2010). *Teknologi Fermentasi*. UNESA Press.
- Suryani, R. (2023). “Pemanfaatan Ampas Ikan Sebagai Sumber Pepton Media Produksi *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13.” Skripsi. Universitas Gadjah Mada.
- Trivedi, K., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Singh, R., Jana, S. (2015). Physical, spectroscopic and thermal characterization of biofield treated fish pepton. *European Journal of Biophysics*, 3(6), 51-58. <https://doi.org/10.11648/J.EJB.20150306.12>.
- Yuniarti, D. W., Sulistiyati, T. D., Suprayitno, E. (2013). Pengaruh suhu pengeringan vakum terhadap kualitas bubuk albumin ikan (*Ophiocephalus striatus*). *THPI Student Journal*, 1(1), 1–9. <http://thpi.studentjournal.ub.ac.id/index.php/thpi/issue/view/2>.
- Virajayo, M. (2024). “Optimasi Konsentrasi Pepton Ampas Ikan dalam Media Pertumbuhan untuk Produksi Bubuk Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13.” Skripsi. Universitas Gadjah Mada.