

**STIMULASI PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* PADA MEDIA YANG
DISUPLEMENTASI TEPUNG REBUNG BAMBU TABAH
(*Gigantochloa nigrociliata* Buse-Kurz)**

Ketut Agus Ary Subakti¹, Nyoman Semadi Antara², Ida Bagus Wayan Gunam²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

E-mail: ary.agus@rocketmail.com¹

E-mail koresponden: semadi.antara@unud.ac.id²

ABSTRACT

Shoots of *tabah* bamboo (*Gigantochloa nigrociliata* Buse-Kurz) are known containing dietary fiber and oligosaccharides as a prebiotic potential. The components contained in the bamboo shoots are expected to enhance the growth of the microflora of the digestive tract including lactic acid bacteria (LAB). This study was conducted to determine the ability of the bamboo shoot flour as a substrate to stimulate the growth of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *In vitro* experiment was conducted in the laboratory by treatment of fermentation time. The media used was Tr-YP media, which was yeast-peptone media added by 2 g bamboo shoots powder per 100 ml. Fermentation was carried out at 37°C with a fermentation time of 0 hours to 24 hours. The results showed that during the fermentation the growth of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* were stimulated by the media that supplemented by bamboo shoot powder. The growth of the bacteria were followed by the decrease in pH. Total *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* after 12 hours fermentation was $5,5 \times 10^8$ CFU/ml and the pH was 5,13.

Keywords: *Gigantochloa nigrociliata*, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*, flour bamboo shoots

PENDAHULUAN

Rebung merupakan salah satu bahan makanan yang cukup populer di masyarakat. Rebung pada pemanfaatannya biasa digunakan dalam kuliner atau makanan tradisional masyarakat Indonesia. Rebung bambu tabah merupakan salah satu komoditi yang mulai banyak diminati selain rebung jenis bambu betung (*Dendrocalamus asper*) dan bambu legi (*Gigantochloa ater*). Keunggulan dari rebung bambu tabah adalah memiliki kandungan protein sebesar 2,29%, serat lebih tinggi dari pada rebung bambu betung (*Dendrocalamus asper*) yaitu sebesar 3,14% dan kandungan HCN lebih rendah dari rebung lain sebesar 0,07 mg per 100 g bahan segar (Kencana *et al.*, 2012). Rebung bambu tabah memiliki rasa yang sangat enak, lembut, *crispy* dan manis.

Selain dimanfaatkan sebagai kuliner atau makanan tradisional, rebung bambu tabah dapat diolah menjadi produk simplisia berupa tepung rebung bambu tabah. Hasil penelitian Puspaningrum (2014) menyebutkan bahwa kandungan serat pangan tepung rebung bambu tabah seperti hemiselulosa sebesar 30,99% (bk), selulosa sebesar 37,55% (bk) dan lignin sebesar 4,05% (bk) selain itu pada tepung rebung bambu tabah mengandung komponen oligosakarida yaitu rafinosa sebesar 4,55% (bk) dan sukrosa 0,35% (bk). Kandungan serat pangan dan oligosakarida pada tepung rebung bambu tabah dapat dikembangkan sebagai prebiotik. Prebiotik merupakan komponen

pada makanan yang tidak dapat dicerna namun mempunyai efek yang menguntungkan karena menstimulasi pertumbuhan satu atau beberapa bakteri di usus yang dapat meningkatkan kesehatan (Gibson dan Roberfoid, 1995). Menurut Silalahi dan Hutagalung (2002), oligosakarida disebut sebagai prebiotik karena dapat berperan sebagai media yang baik untuk pertumbuhan bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan. Oligosakarida adalah karbohidrat sederhana berantai pendek dengan struktur kimia yang unik dan sifatnya menyerupai serat pangan. Senyawa ini tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan, sehingga tidak bisa diserap dalam usus kecil dan dapat masuk ke usus besar. Selanjutnya, senyawa tersebut akan difermentasi oleh bakteri-bakteri yang menguntungkan di dalam usus besar (kolon).

Puspaningrum (2014) mengatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang di uji secara *in vitro* dapat tumbuh dengan baik pada media yang ditambah tepung rebung bambu tabah. Rebung bagian atas dan tengah dapat menstimulasi pertumbuhan *L. casei* subsp. *rhamnosus* lebih baik dibandingkan dengan *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *Bifidobacterium bifidum*. Pertumbuhan *L. casei* subsp. *rhamnosus* tumbuh dengan baik pada MRSB-m pada masing-masing bagian tepung rebung sebanyak $3,1 \times 10^{10}$ CFU/g - $5,8 \times 10^{10}$ CFU/g. Menurut Zainuddin *et al.* (2008) jumlah sel *Lactobacillus casei* meningkat pada lama inkubasi 6 dan 12 jam, namun pada lama inkubasi 18 sampai 24 jam pertambahan jumlah sel hampir sama bahkan tetap.

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tepung rebung bambu tabah dalam menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* pada media yang disuplementasi tepung rebung bambu tabah.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Rebung Bambu Tabah di Desa Padangan, Kecamatan Pupuan, Kabupaten Tabanan, Bali, dan UPT Laboratorium Biosains dan Bioteknologi, Universitas Udayana dari Pebruari hingga September 2015.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah rebung bambu tabah yang didapatkan dari proses pengolahan rebung bambu tabah di Desa Padangan, Kecamatan Pupuan, Kabupaten Tabanan, Provinsi Bali. Kultur bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan adalah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* yang didapatkan dari UPT Laboratorium Biosains dan Bioteknologi, Universitas Udayana. Bahan untuk penyegaran isolat, perhitungan koloni bakteri dan pembuatan suspensi bakteri meliputi; media MRS Broth, MRS Agar, media Tr-YP, gliserol (Pronadisa), NaCl 0,85% (Merck), alkohol 70% (Brataco chemika), akuades, buffer pH 4 dan buffer pH 7, air mineral.

Alat

Alat yang digunakan adalah gelas ukur (*Pyrex*), timbangan analitik 500 g (ACIS), timbangan duduk 50 kg (Hang Vietnam), blender, pisau (*stainless steel*), nampan, talenan, ember, *handgloves*, oven cabinet (*Drying Cabinet ELT*), saringan, ayakan 60 mesh, keranjang, loyang, tisu, pipet volume, pH meter (TOA ion meter IM 40S), mikroskop (*Olympus*), *laminar air flow (ESCO)*, *refrigerator*, cawan petri (*Pyrex*), autoklave, inkubator (*Memmert*), tabung reaksi (*Pyrex*), tabung eppendorf 1,5 ml, rak tabung reaksi, erlenmeyer (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), gelas beker (*Pyrex*), batang kaca bengkok, jarum ose, *magnetic stirrer, stirrer bar (Iwaki BS-38)*, pipetman (*Gilson*) ukuran 100 μ l dan 1000 μ l, tips biru, tips kuning (*Porex Bio Product*), kaca objek, *cover glass*, vortex (*Labinco*).

Pembuatan Tepung Rebung Bambu Tabah

Pemanenan rebung dilakukan dengan memilih rebung yang tumbuh 20 cm dari atas tanah, tidak berongga, belum mengalami *browning* atau pencoklatan enzimatis, tidak lunak dan tidak ada bau menyengat. Selanjutnya rebung ditimbang dan dibersihkan serta dipotong-potong menjadi 2 bagian yaitu bagian atas dan bagian tengah berdasarkan buku-buku. Setelah dilakukan pemotongan selanjutnya rebung di *slicing* dengan ukuran ± 7 mm. Rebung segar kemudian di *blanching* selama 10 menit pada suhu 60-80°C dengan tujuan menginaktifkan enzim yang berperan dalam proses kerusakan bahan pangan, dapat memperbaiki tekstur bahan, memperbaiki warna, mengurangi jumlah mikroorganisme, dan dapat mempermudah proses pengolahan selanjutnya. Setelah dilakukan proses *blanching*, selanjutnya rebung bambu tabah dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 10-11 jam. Proses selanjutnya yaitu penepungan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan sebesar 60 mesh agar rebung yang lolos ayakan diharapkan dapat larut dalam air. Kadar air tepung rebung bambu tabah sebesar 9,03 % (bb) (Patty yang dimodifikasi, 2014).

Fermentasi Tepung Rebung Bambu Tabah

Kultur *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* diambil 0,2 ml dari isolat murni dan disegarkan dalam 5 ml MRS Broth dalam tabung reaksi. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* kembali disegarkan dengan mengambil 0,2 ml dari tabung MRS Broth lama ke tabung berisi MRS Broth baru, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya kekeruhan pada tabung.

Media Tr-YP dibuat dengan formulasi (g/100ml): pepton protease 1 g, *Meat extract* 0,8 g, *Yeast extract* 0,5 g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0,2 g, Tween 80 0,1g, *Sodium acetate* 0,5 g, *Ammonium citrate* 0,2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0,005 g, dan tepung rebung bambu tabah 2 g. pH media Tr-YP diatur sebesar $\pm 6,0$ kemudian disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Proses fermentasi dilakukan secara *in vitro* dengan menambahkan starter bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* sebanyak 5 ml ke dalam media fermentasi yang telah dibuat kemudian dilakukan fermentasi anaerob. Lama fermentasi yaitu 0, 6, 12, 18, dan 24 jam pada suhu 37°C.

Penentuan Total BAL (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*)

Penentuan total BAL (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*) ditentukan dengan metode permukaan (Fardiaz, 1992). Sebanyak 0,1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung eppendorf berisi 0,9 ml NaCl 0,85% kemudian dihomogenkan, sehingga didapat pengenceran 10^{-1} . Larutan tersebut dipipet sebanyak 0,1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendorf berisi 0,9 ml NaCl 0,85% selanjutnya larutan dihomogenkan sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-7} . Pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dipipet sebanyak 0,1 ml kemudian dimasukkan kedalam cawan petri berisi 15-20 ml MRS Agar padat yang telah disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit dengan didinginkan sampai pada suhu 45-50°C. Sampel kemudian disebar dengan menggunakan batang gelas bengkok sampai tersebar merata di atas permukaan agar, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* dengan *Quebec Colony Counter*. Total BAL = jumlah koloni x faktor pengenceran.

Penentuan Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter (Sudarmadji *et al.*, 1997). Alat pH meter yang telah dinyalakan dan distabilkan kemudian dikalibrasi dengan larutan buffer pada pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan kertas tisu kemudian dicelupkan kedalam 10 ml sampel. Nilai pH meter dibiarkan hingga menunjukkan suatu angka yang stabil, angka ini dicatat sebagai nilai pH terukur.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari serangkaian pengujian dianalisis dan dipaparkan secara deskriptif dan data ditampilkan dalam bentuk tabel, gambar maupun foto.

HASIL DAN PEMBAHASAN

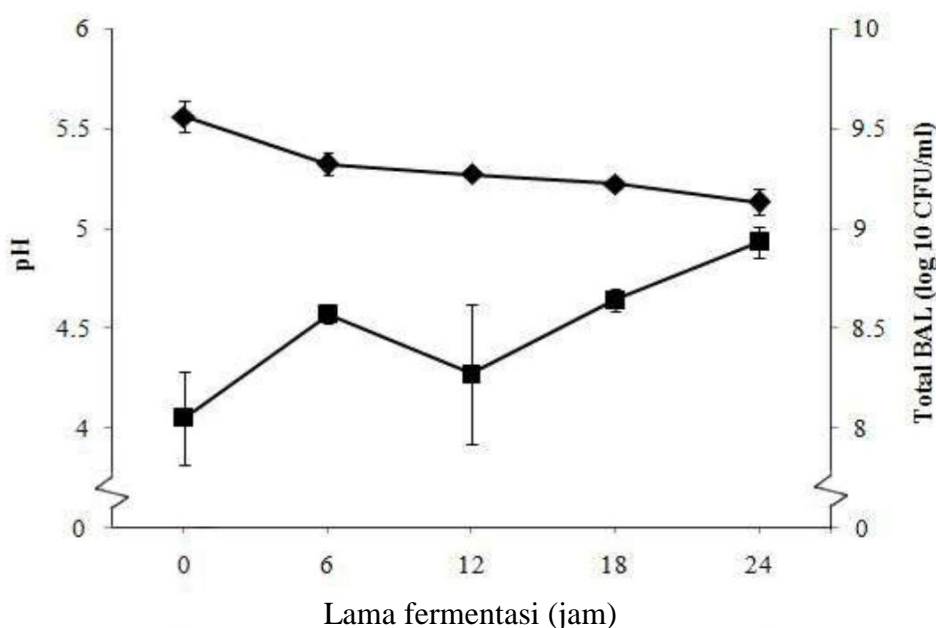
Total BAL (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* cenderung mengalami peningkatan. Jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam adalah berturut-turut $1,3 \times 10^8$ CFU/ml, $3,8 \times 10^8$ CFU/ml, $2,5 \times 10^8$ CFU/ml, $4,4 \times 10^8$ CFU/ml, dan $5,5 \times 10^8$ CFU/ml. Perbedaan jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* diduga disebabkan oleh lama fermentasi dan kemampuan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* melakukan proses perombakan substrat (sukrosa dan rafinosa) yang terdapat pada tepung rebung bambu tabah dalam menghasilkan energi untuk

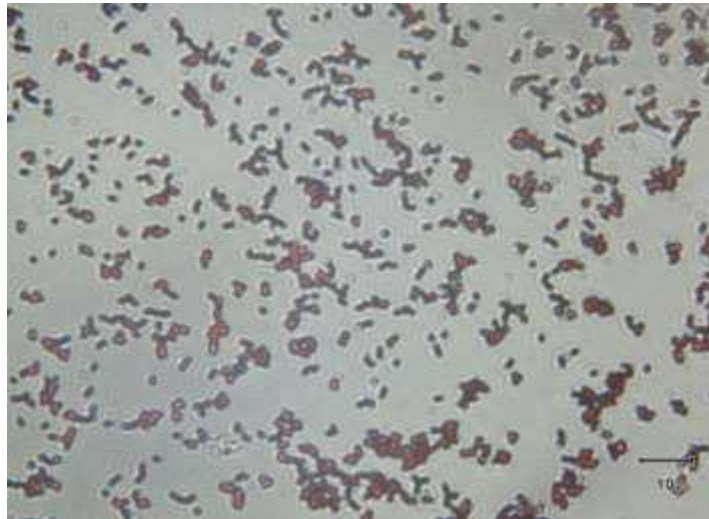
perkembangbiakan sel. Kunaepah (2008) mengatakan bahwa semakin lama fermentasi, bakteri semakin aktif untuk berkembang biak dan jumlahnya semakin banyak sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin besar. Yunus dan Zubaidah (2015) juga mengatakan bahwa lama inkubasi yang semakin lama maka total BAL yang dihasilkan semakin tinggi pula. Menurut Tortuero (1997) prebiotik seperti rafinosa dapat menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus* dalam usus besar. Grafik jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* dapat dilihat pada Gambar 1, dan morfologi sel *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* disajikan pada Gambar 2.

Derajat Keasaman (pH)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata derajat keasaman (pH) pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam mengalami penurunan. Nilai rata-rata derajat keasaman (pH) pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam berturut-turut sebesar 5,56, 5,32, 5,27, 5,22, dan 5,13. Penurunan nilai pH media pada setiap lama fermentasi disebabkan oleh jumlah total BAL (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*). Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat memfermentasi karbohidrat (sukrosa dan rafinosa) yang terkandung pada tepung rebung bambu tabah hingga terbentuk asam laktat. Yang (2000) mengatakan bahwa adanya peningkatan aktivitas BAL menyebabkan terjadinya penurunan pH karena BAL dapat menghasilkan asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan asam propionat yang bersifat antimikroba. Grafik perubahan pH selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan total BAL (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*) dan pH media selama proses fermentasi. pH media: ◆ ; total BAL : ■ .



Gambar 2. Morfologi sel *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* pada pembesaran 1000 kali.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Tepung rebung bambu tabah mampu menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Selama fermentasi tepung rebung bambu tabah terjadi pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* yang diikuti oleh penurunan pH. Jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam adalah berturut-turut $1,3 \times 10^8$ CFU/ml, $3,8 \times 10^8$ CFU/ml, $2,5 \times 10^8$ CFU/ml, $4,4 \times 10^8$ CFU/ml, dan $5,5 \times 10^8$ CFU/ml. Nilai rata-rata derajat keasaman (pH) pada lama fermentasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam berturut-turut sebesar 5,56, 5,32, 5,27, 5,22, dan 5,13.

Saran

Disarankan untuk penelitian lanjutan perlu dilakukan penelitian mengenai variasi penambahan tepung rebung bambu tabah pada proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gibson J., Roberfoid. 1995. Prebiotics. <http://www.wikipedia.com/search/prbiotic.htm> Diakses tanggal 9 januari 2015.
- Kencana P.K.D, W. Widia, N.S. Antara. 2012. Praktek Baik Budi Daya Bambu Rebung Bambu Tabah (*Gigantochloa nigrociliata* BUSE – KURZ) Team UNUD – UNSAID – TPC Project.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Tidak Dipublikasikan. Program Magister Program Studi Megister Gizi Masyarakat. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.

- Pattty, R.H. 2014. Pengaruh Bagian Rebung dan Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Tepung Dari Rebung Bambu Tabah (*Gigantochloa nigrociliata* BUSE KURZ). Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana.
- Puspaningrum, D. 2014. Potensi Tepung Rebung Bambu Tabah (*Gigantochloa Nigrociliata* BUSE-KURZ) Sebagai Sumber Serat Pangan dan Prebiotik. Tesis. Tidak Dipublikasikan. Program Magister Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Udayana.
- Silalahi, J dan N. Hutagalung. 2002. Komponen-komponen Bioaktif dalam Makanan dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan. <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/062002/pus-3.htm> Diakses 15 januari 2015.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. Suhardi. 1997. Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Penelitian. Liberty, Yogyakarta.
- Tortuero, F., E. Fernandez, P. Rupbrez, dan M. Moreno. 1997. Raffinose and lactic acid bacteria influence caecum fermentation and serum cholesterol in rats. *Nutrition. Res.* 17: 41-49.
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial Component and Extracellular Polysachcaride Produce By Lactic Acid Bacteria: Structure and Properties. Dept. Of Food Technology. University Helsinsky, Helsinsky.
- Yunus, Y. dan E. Zubaidah. 2015. Pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap viabilitas *L. casei* selama penyimpanan beku velva pisang ambon. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 03(02): 303-312.
- Zainuddin, A., E.B. Wasito, N.N.T. Puspaningsih. 2008. Pengujian *in vitro* xilooligosakarida sebagai kandidat prebiotik. *Berk. Penel. Hayati.* 14: 101-111.