

PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* PADA MEDIA YANG DISUPLEMENTASI TEPUNG KOLANG-KALING

I Nengah Widedianto¹, Nyoman Semadi Antara^{2*}, I Made Mahaputra Wijaya²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian aUnud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

*e-mail: semadi.antara@unud.ac.id

ABSTRACT

Sugar palm (*Arenga pinnata*) is a plant that produces industrial materials. Almost all parts or products of these plants can be utilized and have economic value. One product can be produced sugar palm is a fruit that can be processed into sugar palm fruit. The components contained in the sugar palm fruit especially galactomanan, are expected to enhance the growth of the microflora in the digestive tract including lactic acid bacteria (LAB). This study was aimed to determine the concentration of sugar palm fruit flour in stimulating the growth of lactic acid bacteria (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*). In vitro experiments conducted in the laboratory with treatment of sugar palm fruit flour with glucose as a control. Medium used was yeast-peptone medium supplemented with 1% glucose, 0% sugar palm fruit flour, 0.5% sugar palm fruit flour, 1% sugar palm fruit flour, 1.5% sugar palm fruit flour, and 2% sugar palm fruit flour. Fermentation was carried out at 37 °C for 9 hours. The results showed that during the fermentation was occurred the growth of the bacteria followed by the change of pH and total acids that strengthen the research results. The best concentration of sugar palm fruit flour that the highest stimulating effect on the growth of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* was 1.5%.

[Keywords]: Sugar palm, sugar palm fruit, *Lactobacillus casei*.

PENDAHULUAN

Aren atau enau (*Arenga pinnata*) merupakan tanaman yang menghasilkan bahan-bahan industri. Hampir semua bagian atau produk tanaman ini dapat dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomi (Iswanto, 2009). Salah satu hasil dari aren adalah buahnya yang dapat diolah menjadi kolang-kaling. Kolang-kaling berbentuk lonjong, kenyal serta berwarna putih. Kandungan gizi buah kolang-kaling per 100 gram yaitu mengandung energi 27 kkal, protein 0,4 gram, lemak 0,2 gram, karbohidrat 6 gram, serat 1,6 gram, kalsium 91 mg, fosfor 243 mg, zat besi 0,5 mg, dan kadar air kolang-kaling mencapai 91,8%. Dari segi hasil komposisi kimia di atas, kolang-kaling memiliki serat dan karbohidrat yang baik untuk kesehatan. Jenis karbohidrat yang terkandung pada kolang-kaling yaitu galaktomanan yang mencapai 4,15% (Castro, 2007). Kandungan serat pangan dan galaktomanan yang terkandung di dalam kolang-kaling merupakan jenis karbohidrat yang dapat dikembangkan sebagai prebiotik (Maulyta, 2013).

Prebiotik merupakan komponen pada makanan yang tidak dapat dicerna namun mempunyai efek yang menguntungkan karena menstimulasi pertumbuhan satu atau beberapa jumlah bakteri di usus yang dapat meningkatkan kesehatan (Gibson dan Roberfoid, 1995). Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri yang menguntungkan, dan secara alami ada pada saluran pencernaan.

Lactobacillus casei merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang menguntungkan di dalam mikroflora usus dan banyak digunakan sebagai probiotik (Macfarlane dan Cumming, 1999; Sullivan dan Nord, 2002). Bakteri ini termasuk dalam bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk bulat maupun batang, dan menghasilkan asam laktat sebagai mayoritas produk akhir selama memfermentasi karbohidrat (Axelsson, 1998).

Pada penelitian ini dilakukan uji kemampuan masing-masing konsentrasi tepung kolang-kaling yang terbaik untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat. Berdasarkan penelitian tentang kolang-kaling, belum ada penelitian tentang pengaruh konsentrasi tepung kolang-kaling terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat. Namun penelitian yang dilakukan oleh Prastyanarasti (2014) menyebutkan bahwa total bakteri asam laktat cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya substrat yang ditambah, dimana hal ini diduga karena semakin banyak nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan BAL. Sedangkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Tapsin (2007) menyebutkan bahwa polisakarida mannan tidak menunjukkan bakterisidal, tetapi jumlah koloni bakteri semakin menurun seiring dengan meningkatnya polisakarida mannan. Uji hambat menggunakan media cair yang mengandung polisakarida mengandung mannan menunjukkan adanya daya hambat yang cukup nyata, dimana makin tinggi polisakarida mengandung mannan yang diberikan makin tinggi pula daya hambatnya. Penghambatan ini terjadi karena sebagian dari dinding sel bakteri menempel pada polisakarida mengandung mannan sehingga tidak dapat berkembang biak seperti pada perlakuan kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian-penelitian sebelumnya, maka akan dipelajari pengaruh konsentrasi tepung kolang-kaling yang terbaik untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat, dimana yang hasilnya diharapkan menjadi bahan acuan dan sebagai studi awal untuk pemanfaatan kolang-kaling sebagai bahan prebiotik.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Laboratorium Bioindustri dan lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, dan UPT Laboratorium Biosains, Universitas Udayana dari Nopember 2016 hingga januari 2017.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah nampan, gelas ukur (Pyrex), timbangan analitik 500 gram (ACIS), timbangan duduk 50 kg (Hang Vietnam), blender, pisau (*stainless steel*), talenan, ember, *handgloves*, oven cabinet (*Drying Cabinet* ELT), saringan, ayakan 60 mesh, keranjang, loyang, tisu, cawan petri, pipet volum, cawan porselin, eksikator, pH meter (SCHOTT Instruments), mikroskop

(olympus), laminar air flow (ESCO), refrigerator, cawan petri (iwaki-pyrex), autoklave, inkubator (Meyert), tabung reaksi (iwaki-pyrex), rak tabung reaksi, erlenmeyer (iwaki-pyrex), gelas ukur (iwaki-pyrex), gelas beker (iwaki-pyrex), batang kaca bengkok, jarum ose, magnetic stirrer, stirrer bar (iwaki BS-38), kaca objek, cover glass, vortex (Barnstead).

Bahan yang digunakan adalah kolang-kaling yang didapatkan dari Desa Duda Utara, Kecamatan Selat, Karangasem, Bali. *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* yang didapatkan dari UPT Laboratorium Biosains Universitas Udayana. Bahan untuk penyegaran isolat, perhitungan koloni bakteri dan pembuatan suspensi bakteri meliputi: media MRS Broth, MRS Agar, gliserol (Pronadisa), NaCl (Merck), alkohol 70% (Brataco chemika), aquades, buffer pH 4 dan buffer pH 7, Pepton, air mineral.

Pembuatan Tepung Buah Aren/Kolang-Kaling

Tahapan-tahapan yang dilakukan untuk pembuatan tepung kolang-kaling meliputi: pencucian, blansing, pengeringan pada suhu 60°C, penghancuran, pengayakan menggunakan ayakan 60 mesh. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada kolang-kaling. Proses blansing itu sendiri bertujuan untuk menginaktivkan enzim yang terdapat pada kolang-kaling karena enzim akan menyebabkan perubahan warna yang tidak diinginkan pada hasil olahan. Disamping itu bertujuan untuk melembekan jaringan pada kolang-kaling yang akan mempermudah dalam proses penghancuran, menguapkan senyawa-senyawa volatil sehingga mengurangi bau langu dari kolang-kaling (Alim, 2002). Kolang-kaling yang telah mengalami pengovenan yang bersuhu 60°C selanjutnya dihancurkan dengan blender, sehingga diperoleh tepung kolang-kaling. Tepung kolang-kaling yang dihasilkan berwarna putih, tidak berbau (netral) dan masa jenisnya rendah (Alim, 2002).

Fermentasi Tepung Kolang-Kaling

Media Tkk-YP dibuat dengan formulasi (g/100ml): pepton protease 1 g, Meat extract 0,8 g, Yeast extract 0,5 g, K₂HPO₄.3H₂O 0,2 g, Tween 80 0,1g, Sodium acetate 0,5 g, Ammonium citrate 0,2 g, MgSO₄.7H₂O 0,02 g, MnSO₄. H₂O 0,005 g, glikosa 2 gram, dan konsentrasi tepung kolang kaling sebanyak (0,5), (1), (1,5), (2) gram. pH media Tkk-YP diatur sebesar ± 6,0 kemudian disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Tahap fermentasi dilakukan secara in vitro dengan media Tkk-YP, dimana komponen di dalam media Tkk-YP ditambah dengan 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2% tepung kolang-kaling sebagai media tumbuh. Kontrol yang digunakan adalah media YP yang tanpa komponen tepung kolang kaling, dan media G-YP yaitu media yang ditambah glukosa sebanyak 1 gram sebagai kontrol negatif. Selanjutnya ditambahkan starter bakteri asam laktat ke dalam media fermentasi yang telah dibuat, kemudian dilakukan fermentasi selama 9 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan total BAL, derajat keasaman (pH), dan total asam.

Penentuan Total Bakteri

Total bakteri asam laktat ditentukan dengan metode permukaan. Pengenceran yang digunakan adalah 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . Media untuk perhitungan yang digunakan adalah MRS agar padat untuk perhitungan bakteri asam laktat. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dalam suasana aerob (Fardiaz, 1992).

Penentuan Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH-meter (Sudarmadji *et al.*, 1997). Elektroda dicelupkan ke dalam sampel sebanyak 10 ml. pH dibiarkan sehingga menunjukkan suatu angka yang stabil, angka ini dicatat sebagai nilai pH terukur.

Penentuan total asam

Pengukuran keasaman dilakukan dengan menghitung kadar asam setara asam laktat dengan metode titrasi (Sudarmadji, 1997). Sampel yang akan diukur keasamannya diambil sampelnya sebanyak 10 ml untuk dititrasi. Sebelum dititrasi sampel ditetesin phenolptalin (PP) 1% sebanyak 2 tetes, setelah itu sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terlihat warna merah muda konstan. Perhitungan kadar asam dilakukan dengan rumus :

$$\text{Kadar asam} = \frac{V1 \times N \times B}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

V1 = Volume NaOH (ml)

V2 = Volume sampel (ml)

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

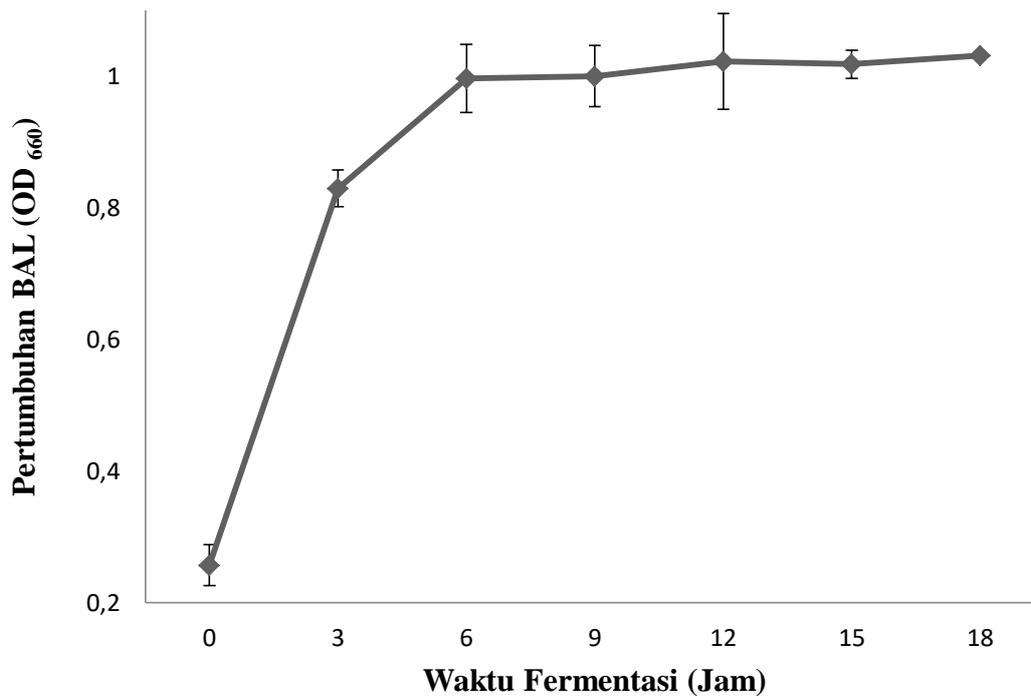
B = Berat molekul asam laktat (90)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan bakteri asam laktat

Ada 4 fase pertumbuhan mikroba, diantaranya adalah fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Waluyo, 2004). Hasil penelitian pendahuluan untuk menentukan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat pada konsentrasi tepung kolang-kaling, dihasilkan bahwa pada fermentasi 9 jam bakteri asam laktat berada di antara fase log dan fase stasioner. Selama fermentasi 9 jam bakteri asam laktat tumbuh dengan baik ini disebabkan karena masih tersedianya nutrisi pada media tersebut. Setelah fermentasi 9 jam nutrisi akan dibatasi oleh habisnya nutrisi yang tersedia, sehingga kecepatan pertumbuhan menurun. Dari penelitian pendahuluan tersebut, bahwa ditentukan untuk

fermentasi tepung kolang-kaling oleh bakteri asam laktat menggunakan fermentasi selama 9 jam. Gambar kurva pertumbuhan bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 1.

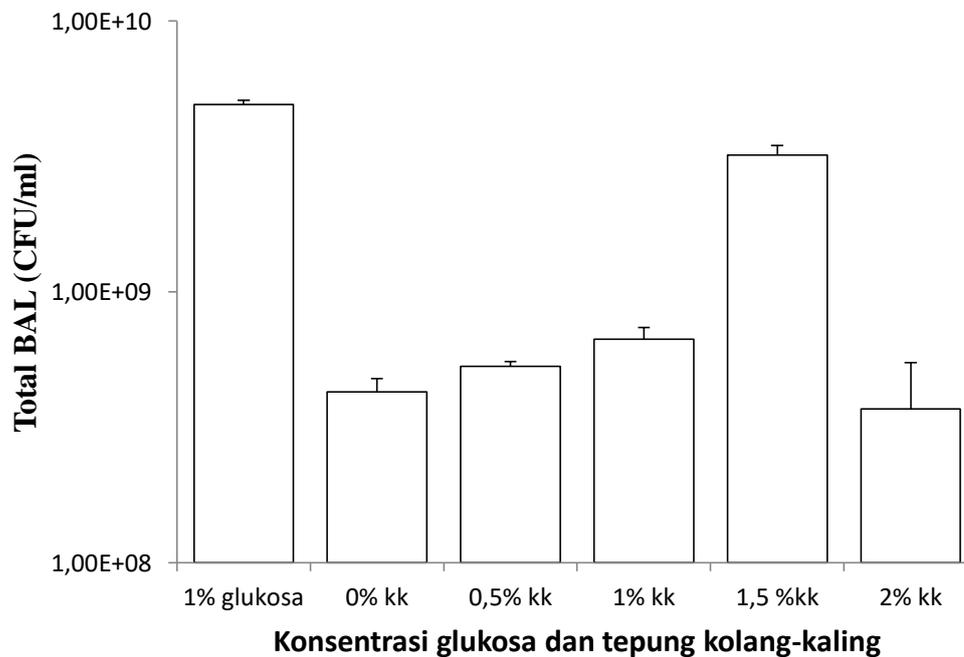


Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri asam laktat pada konsentrasi 1% tepung kolang-kaling.

Total Bakteri Asam Laktat

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 2, bahwa pada konsentrasi 1% glukosa memiliki total BAL paling tinggi dibandingkan dengan suplementasi tepung kolang-kaling. Hal ini disebabkan karena glukosa merupakan gula yang akan dipermentasi menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat akan tumbuh baik jika substrat mengandung banyak gula karena gula merupakan substrat dari BAL (Santoso, *et al* 2009). Sedangkan pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 1,5% tepung kolang-kaling cenderung mengalami peningkatan total BAL seiring dengan peningkatan konsentrasi pada tepung kolang-kaling. Jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* pada konsentrasi tersebut adalah berturut-turut $4,27 \times 10^8$ CFU/ml, $5,30 \times 10^8$ CFU/ml, $6,68 \times 10^8$ CFU/ml, dan $32,00 \times 10^8$ CFU/ml.

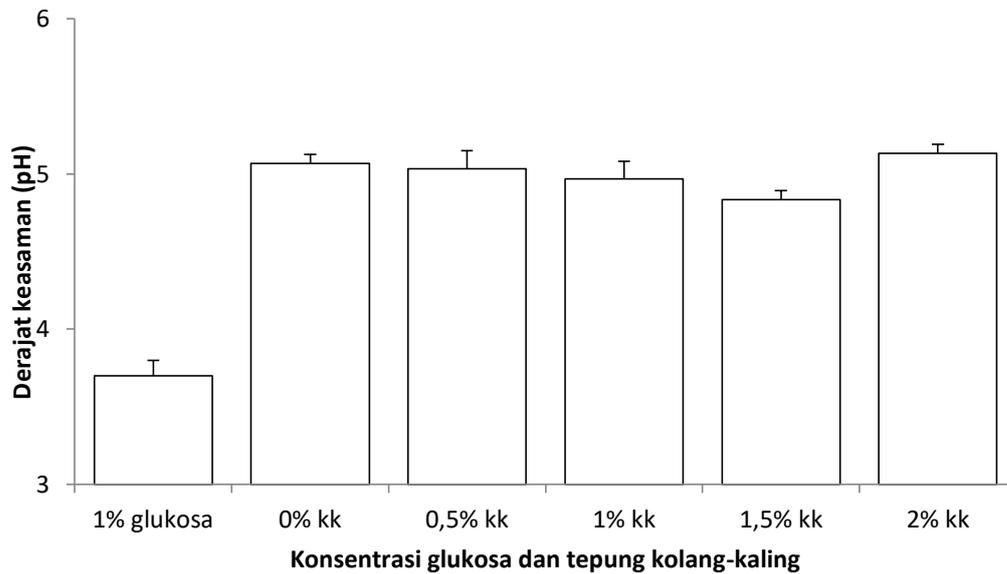
Sementara pada konsentrasi 2% tepung kolang-kaling jumlah *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* terjadi penurunan, jumlah pada konsentrasi tersebut mencapai $3,70 \times 10^8$ CFU/ml. Hal ini disebabkan karena tingginya pembentukan gel pada media tersebut yang menyebabkan dinding sel bakteri menempel pada polisakarida mengandung mannan sehingga *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* tidak dapat tumbuh dengan maksimal (Tapsin, 2007). Pembentukan gel pada media konsentrasi 2% tepung kolang-kaling disajikan pada Gambar 5.



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri asam laktat pada konsentrasi Glukosa dan tepung kolang-kaling (kk). Batang di atas grafik pada gambar merupakan standar deviasi.

Derajat Keasaman (pH)

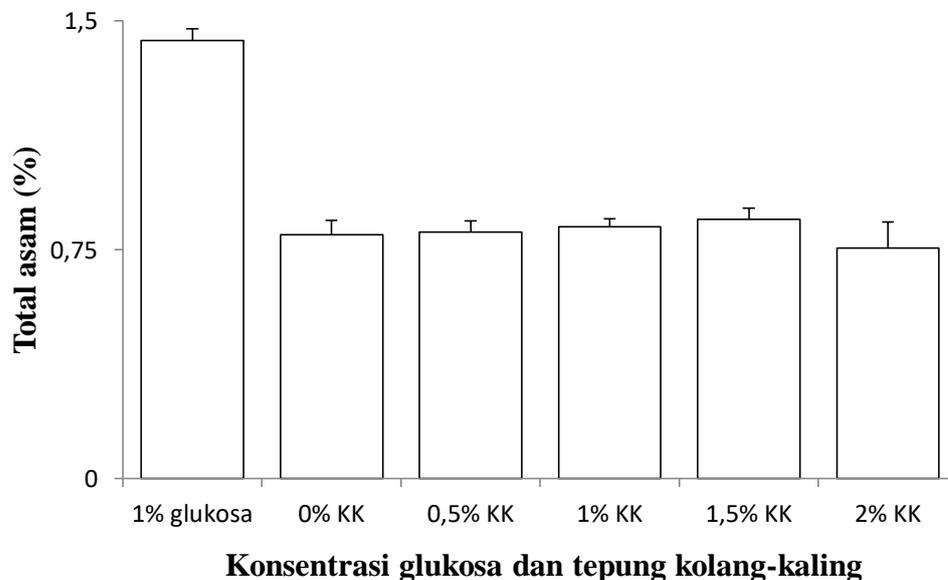
Hasil penelitian yang disajikan pada Gambar 3, menunjukkan bahwa nilai rata-rata derajat keasaman (pH) pada konsentrasi 1% glukosa, 0% tepung kolang-kaling, 0,5% tepung kolang-kaling, 1% tepung kolang-kaling, 1,5% tepung kolang-kaling, dan 2% tepung kolang-kaling mengalami perbedaan nilai. Hal ini disebabkan karena pada penambahan konsentrasi glukosa maupun kolang-kaling menggunakan konsentrasi yang berbeda sehingga asam laktat yang didapat akan berbeda pula. Pada konsentrasi 1% glukosa mempunyai nilai paling rendah, ini disebabkan karena pada konsentrasi tersebut Total BAL yang dihasilkan meningkat, sehingga pH yang dihasilkan menurun. Pada konsentrasi 1,5% tepung kolang-kaling memiliki nilai terendah dari konsentrasi tepung kolang-kaling yang lainnya, ini juga disebabkan karena pada konsentrasi tersebut nilai total BAL paling tinggi dari pada konsentrasi tepung kolang-kaling yang lainnya. Hal ini sejalan dengan Penelitian yang dilakukan Yang (2000) 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.



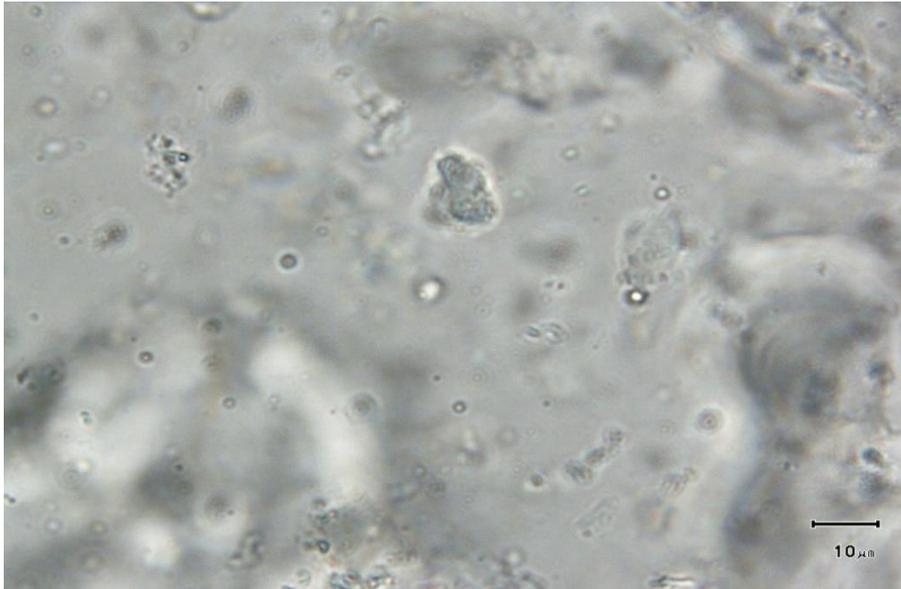
Gambar 3. Nilai derajat keasaman (pH) setelah fermentasi pada setiap konsentrasi glukosa dan kolang-kaling (kk). Batang diatas grafik pada gambar merupakan standar deviasi.

Total asam

Penentuan total asam yang disajikan pada Gambar 4, menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1% glukosa memiliki nilai paling tinggi, dan pada konsentrasi tepung kolang-kaling menunjukkan bahwa nilai yang tertinggi yaitu 1,5% kolang-kaling. Dari nilai yang didapatkan untuk menghitung total asam, dapat dilihat bahwa nilai total asam berkorelasi positif dengan total BAL, karena semakin tinggi total BAL yang dihasilkan maka total asam yang dihasilkan akan tinggi pula. Asam-asam organik yang dihasilkan karena metabolisme BAL akan menyebabkan pH menjadi rendah. Derajat keasaman (pH) mempunyai korelasi dengan total asam, pH yang rendah menunjukkan jumlah asam yang meningkat begitu juga sebaliknya (Supriyono 2008).



Gambar 4. Nilai Total asam pada konsentrasi glukosa dan kolang-kaling (kk). Batang diatas grafik pada gambar merupakan standar deviasi.



Gambar 5. Pembentukan gel pada media konsentrasi 2% tepung kolang-kaling.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tepung kolang-kaling dapat menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Sedangkan konsentrasi tepung kolang-kaling terbaik yaitu pada konsentrasi 1,5% tepung kolang-kaling yang merupakan batas maksimum konsentrasi tepung kolang-kaling, karena di atas suplementasi 1,5% tepung kolang-kaling bakteri yang tumbuh menurun.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai konsentrasi 1,1% s ampai 1,9% tepung kolang-kaling untuk menstimulasi bakteri asam laktat.
2. Perlu memisahkan media yang mau disterilisasi dengan tepung kolang-kaling, setelah masing-masing di sterilisasi baru dicampur di dalam *laminar air flow*.
3. Perlu menurunkan jumlah nutrisi pada media *yeas peptone* (YP) sehingga pada konsentrasi 0% tepung kolang-kaling jumlah koloni yang dihasilkan sedikit.
4. Perlu menguji galaktomanan untuk menstimulasi pertumbuhan BAL dan menguji tepung kolang-kaling, sehingga didapatkan fungsi galaktomanan untuk prebiotik.

DAFTAR FUSTAKA

- Alim. 2002. Mempelajari Pembuatan dan Daya Terima Es Krim Kolang Kaling. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S. & A. V. Wright (Eds). Lactic Acid Bacteria. pp. 1–72. Marcel Dekker, New York.
- Cummings JH, 1995. Short chain fatty acids. In: Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Pathology. GR Gibson and GT Macfarlane (Eds). CRC Press, Boca Raton, FL. 101-130.
- Castro R.R. 2007. Analgesik activity of a polysaccharide in experimental osteoarthritis in rats. Clin Rheumatol 26:1312-1319.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gibson J. and Roberfoid. 1995. Prebiotics. <http://www.wikipedia.com/search/prebiot-c.htm> (diakses tanggal 9 Januari 2015)
- Iswanto, A. H. 2009. Aren (*Arenga pinnata*). Karya Tulis. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mauliyta. A. S. (2013). Pengaruh pemberian ekstrak galaktomanan dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera L*) terhadap peningkatan kadar SCFA (Short chain fatty acid) pada feces tikus wister jantan hiperkolesterolemenia. Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Jember.
- Prastyanarasti, Lila. 2014. Evaluasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* dalam medium susu skim yang disubstitusi tepung beras merah. Jurnal Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2 (4): 285-296. Teknologi Hasil Pertanian, Ftp, Unibraw, Malang.
- Santoso, B. 2009. Kualitas rumput unggul tropika hasil ensilase dengan bakteri asam laktat dari ekstrak rumput terfermentasi. Jurnal Universitas Negeri Papua. 32 (2): 137-144. Papua Barat.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. Suhardi. 1997. Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Penelitian. Liberty, Yogyakarta.
- Supriyono, T. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total Dan Aktivitas “merantas” Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Stater (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan konsentrasi glukosa. Tesis Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro Semarang, Semarang.
- Tapsin, M. 2007. Kajian Polisakarida Mannan dari Bungkil Inti Sawit Sebagai Pengendali *Salmonella thypimurium* dan Immunostimulan pada Ayam disertasi. Tidak Dipublikasikan. Sekolah Pasca sarjana IPB, Bogor.
- Waluyo, L. 2004. Mikrobiologi Umum. Penerbit Universitas Muhamadiyah Press, Malang.
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial Component and Extracellular Polysachcaride Produce By Lactic Acid Bacteria: Structure and Properties. Dept. Of Food Technology. University Helsinsky, Helsinsky.