

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT TEMPOYAK
ASAL JAMBI DARI BERBAGAI KOSENTRASI GARAM**

Isolation and identification of lactic acid bacteria from “TEMPOYAK” (fermented durian) made from various salts concentrations.

Addion Nizori^{1*} Nanda Prayogi¹ dan Mursalin²

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian -Universitas Jambi
Kampus Universitas Jambi Pondok Meja Jambi

²Jurusan Teknik Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian -Universitas Jambi
Kampus Universitas Jambi Pondok Meja Jambi

Penulis Korespondensi: email addion_nizori@unja.ac.id

Abstrak

Tempoyak adalah makanan tradisional khas Jambi yang banyak peminatnya karena cita rasa gurih dan aromanya yang khas. Tempoyak terbuat dari daging durian tanpa biji melalui proses fermentasi yang disimpan beberapa hari dalam kondisi lingkungan an-aerob. Tujuan penelitian ini adalah untuk identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari tempoyak yang terbentuk dari penambahan berbagai konsentrasi garam (0, 1%, 2%, 3% dan 4%) selama 1 minggu masa penyimpanan serta melihat karakteristik fisik, kimia dan sensori tempoyak yang dihasilkan. Dari hasil pengamatan identifikasi secara mikrobiologi koloni bakteri asam laktat berbentuk bulat dan bewarna putih susu, gram positif (+), reaksi katalase negatif. Sedangkan analisa sensori karakteristik tempoyak yang dihasilkan adalah bewarna kuning muda, rasa asam, tekstur agak lunak, aroma tempoyak tajam dan disukai panelis penampakan tempoyak secara keseluruhan. Karakteristik fisik dihasilkan dengan pH berkisar antara 3,61 – 3,95 dan total padatan terlarut berkisar antara 1,90 – 3,50.

Kata kunci: Tempoyak, konsentrasi garam, Bakteri asam laktat.

PENDAHULUAN

Salah satu makanan tradisional khas Jambi adalah asinan durian atau lebih populer disebut tempoyak yang dibuat dengan jalan memfermentasi daging buah durian yang lewat masak dalam wadah tertutup, sehingga dihasilkan produk seperti pasta dan biasanya dikonsumsi sebagai pembangkit selera, ramuan makanan utama, maupun sebagai bumbu masakan bersama dengan rempah-rempah lainnya.

Cita rasa yang gurih dan aromanya yang kuat disebabkan oleh adanya keseimbangan dari komponen gula dari buah, asam laktat yang terbentuk selama fermentasi, garam yang digunakan sebagai pengontrol proses, ditambah dengan senyawa aromatik yang terbentuk selama proses fermentasi (Lourens-Hattingh and Viljoen 2001).

Bakteri asam laktat telah lama dikenal dan digunakan manusia dalam proses pengolahan pangan (fermentasi). Bakteri ini memberikan kontribusi besar terhadap perbaikan flavour, tekstur dan massa simpan produk fermentasi. Teknologi teraru yang dikembangkan sekarang ini adalah penggunaan bakteri asam laktat yang mampu meningkatkan derajat kesehatan dan membantu dalam proses penyembuhan penyakit. Menurut Elmer et al. (1996) yang dikutip oleh Drouault et al. (1999) bakteri asam laktat termasuk mikroba yang aman dan beberapa galur digunakan sebagai terapia dalam proses penyembuhan penyakit manusia seperti diare, konstipasi, infeksi saluran kemih, mencegah kanker, rematik serta menurunkan kolesterol dalam darah (Reid, 1999).

Selama ini masyarakat Jambi hanya menambahkan garam secukupnya untuk pembuatan tempoyak. Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi BAL yang terbentuk selama 1 minggu masa penyimpanan dengan melakukan penambahan berbagai tingkat konsentrasi garam, serta melihat karakteristik fisik, kimia dan sensori dari tempoyak yang dihasilkan

Berdasarkan hal tersebut diatas dan minimnya informasi tentang karakteristik tempoyak dan bakteri asam laktat yang dihasilkan maka penulis telah melakukan penelitian pengembangan produk tempoyak asal Jambi dengan judul Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat tempoyak asal Jambi dari berbagai konsentrasi garam

METODE PENELITIAN

Metode rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan (5x3). Perlakuan 1 sampai 5 berturut-turut yang digunakan disini adalah penambahan garam 0, 1%, 2%, 3% dan 4%. Pengamatan yang dilakukan adalah karakteristik fisik, kimia serta analisa sensori yang meliputi warna, rasa, aroma, tekstur dan penerimaan keseluruhan tempoyak. Penelitian ini telah berlangsung di Laboratorium Biologi-Mikrobiologi FTP Universitas Jambi.

Bahan dan Alat

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Buah durian yang berasal dari Jambi, Media mikrobiologi seperti MRSA, MRS Broth, APDA, RCA, sodium propionate serta berbagai bahan kimia teknis lainnya.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Alat yang digunakan meliputi: Fasilitas penyimpanan bakteri (freezer, kulkas, inkubator) Gelas piala, jarum ose, botol semprot, vortex, timbangan, erlemeyer, pipet mikro, tip, cawan petri, tabung reaksi, mikroskop, autoclave, hot plate, magnetik stirer, dan oven. Instrument yang digunakan meliputi spektrofotometer, pH Meter digital, thermometer digital, coloni counter serta alat-alat gelas lainnya.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Tempoyak

Pembuatan tempoyak dilakukan dengan mengadopsi pembuatan tempoyak masyarakat Jambi secara tradisional yaitu memeras daging buah durian masak tanpa biji dalam stoples yang tertutup rapat dengan ditambahkan garam 0, 1, 2,3 dan 4% (b/b) sebelumnya. Stoples dibiarkan disimpan selama 1 minggu pada suhu kamar, setelah seminggu tempoyak mengeluarkan aroma khas tempoyak maka tempoyak siap dijadikan sampel untuk mengetahui karakteristik fisik, kimia dan sensori tempoyak serta isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat yang dihasilkan.

Pengamatan karakteristik Tempoyak yang dihasilkan

Pengamatan terhadap karakteristik tempoyak yang dihasilkan meliputi pengamatan fisik, kimia (pH dan Total padatan terlarut (TPT) dan Sensori. Uji sensori dilakukan dengan menggunakan uji hedonik dan mutu hedonik. Pengamatan yang dilakukan adalah terhadap mutu hedonik adalah rasa, aroma, tekstur dan warna, sedangkan untuk uji hedonik berupa penerimaan keseluruhan. Panelis yang digunakan adalah panelis agak terlatih yang berjumlah 15 orang yang terdiri dari mahasiswa program studi THP FATETA Universitas Jambi.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan secara bertahap untuk mendapatkan berbagai jenis bakteri asam laktat, yang diisolasi dari tempoyak Jambi, metoda isolasi bakteri asam laktat mengikuti metoda yang dilakukan oleh Aryanyata (1991) dan Hayakawa (1992).

Isolasi dilakukan dengan mensuspensikan 1 g tempoyak sesuai perlakuan, kedalam 9 ml larutan 0,85% NaCl (pengenceran 10^1) secara aseptis. Kemudian dibuat pengenceran berseri sampa 10^6 kedalam larutan garam fisiologis, 3 seri dari pengenceran terakhir di lakukan pemupukan secara duplo ke dalam cawan petri steril. Tambahkan 15-20 ml media MRSA untuk melihat pertumbuhan Lactobacillus dan bakteri asam laktat lainnya. Lakukan penggoyangan secara mendatar dan setelah agar membeku, diinkubasikan pada suhu ruang selama dua hari (48 jam). Koloni yang diamati dengan penampakan rata dan bewarna kuning atau abu-abu sampai coklat disekitar koloni. Koloni dengan warna dan ukuran yang berbeda digoreskan kembali ke medium yang sama dengan goresan kuadran. Inkubasi dilakukan pada kondisi yang sama dengan diatas. Penggoresan dilakukan sampai didapat koloni yang seragam, koloni yang sudah murni dipilih dan dilakukan pewarnaan gram dan uji katalase.

Koloni gram positif dan katalase negatif (isolat murni) ditumbuhkan dalam MRS broth selama dua hari pada suhu 37°C , kemudian ditumbuhkan selama 2 hari dalam media agar semi solid MRS yang mengandung 0,2 % CaCO_3 dalam bentuk agar miring sebagai kultur stok. Kultur stok kemudian di awetkan pada suhu 5°C dan harus

diperbaharui setiap 2 minggu. Bila akan digunakan pada setiap tahap pengujian bakteri asam laktat pada kultur stok dipersiapkan menjadi kultur kerja.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat diidentifikasi sampai tingkat genus, langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan kultur kerja dari kultur stok. Caranya adalah dengan menginokulasikan sebanyak 3-4 ose kultur stok kedalam MRS broth dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Kultur ini selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi genus dari bakteri asam laktat. Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan sifat morfologi, pengamatan ciri-ciri fisiologis, dan sifat-sifat biokimia bakteri. Pengamatan morfologi meliputi bentuk sel, karakteristik koloni, reaksi gram, sedangkan pengamatan ciri-ciri fisiologi dan sifat-sifat biokimia meliputi; Uji katalase (Hadioetomo, 1993)

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Tempoyak yang dihasilkan

Secara fisik, tempoyak mempunyai karakteristik massa yang bersifat padat, bewarna putih sampai kekuningan, memiliki cita rasa dan aroma yang kuat, yang disebabkan oleh asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi (Yuliana, 2015). Pengaruh penambahan garam dengan konsentrasi yang berbeda menghasilkan karakteristik organoleptik tempoyak seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik organoleptik tempoyak yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi garam yang ditambahkan.

Konsentrasi garam (%)	Rasa	Warna	Tekstur	Aroma	Penerimaan Keseluruhan
0	2.44	1.52	3.76	2.56	2.92
1	2.48	1.80	3.74	2.61	3.20
2	2.48	1.84	3.74	2.52	3.22
3	2.41	1.92	3.60	2.56	3.41
4	2.56	2.08	3.68	2.52	2.96

Rasa (1=tidak asam; 2=agak asam; 3= asam; 4=sangat asam; 5=Amat sangat asam)

Warna (1=Putih kekuningan; 2= kuning muda; 3= kuning; 4=kuning tua; 5=Kuning kecoklatan)

Tekstur (1=tidak lunak 2=agak lunak; 3= lunak; 4=sangat lunak; 5=Amat sangat lunak)

Aroma (1=tidak tajam; 2=agak tajam; 3= tajam; 4=sangat tajam; 5=Amat sangat tajam)

Penerimaan keseluruhan(1=Tidak suka; 2=agak tidak suka; 3= Suka; 4= sangat suka; 5=Amat sangat suka)

1.a. Rasa

Rasa merupakan tanggapan indera terhadap rangsangan saraf, diterima melalui indera pengecap lidah. Dari Tabel 1 terlihat nilai rata-rata uji mutu hedonik rasa dimana nilai rata-rata yang dihasilkan mengalami sedikit peningkatan nilai keasaman dari produk tempoyak tapi masih dalam rentang agak masam (2) dan masam (3). Hal ini menunjukkan ada kecenderungan semakin tinggi kadar garam rasa tempoyak akan semakin asam.

Perubahan rasa asam yang terjadi pada tempoyak berasal dari BAL yang bekerja selama proses fermentasi dan akan menghasilkan asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat dan etanol sebagai produk akhir. Tempoyak yang umumnya disukai oleh masyarakat yaitu tempoyak yang memounyai rasa yang agak asam, warna cerah serta mempunyai aroma khas bahan dasarnya yaitu durian dengan tekstur yang tidak terlalui berair (Sukowati, 2017).

1.b. Warna

Salah satu parameter yang penting dalam suatu produk makanan adalah warna, karena dapat menentukan tingkat kesukaan konsument terhadap produk makanan tersebut. Skala analisis pada warna yang digunakan adalah warna Putih kekuningan, kuning muda, kuning. kuning tua dan Kuning kecoklatan. Umumnya tempoyak memiliki warna yang sesuai dengan warna bahan dasarnya yaitu durian dan bergantung kepada varietas durian yang dipakai untuk buat tempoyak.

Dari Tabel 1 terlihat nilai rata-rata uji mutu hedonik warna dimana nilai rata-rata yang dihasilkan mengalami peningkatan nilai skor warna dari produk tempoyak dari putih kekuningan (1) ke kuning muda dengan bertambahnya kosentrasi garam. Menurut Yuliana (2015), Waktu penyimpanan akan berpengaruh terhadap warna dari tempoyak diman penyimpanan yang lama/berbulan-bulan akan merubahwarna tempoyak dari putih kekuningan menjadi warna kecoklatan sebagai akibat reaksi oksidasi.

1.c. Tekstur

Tekstur juga merupakan parameter penting yang dapat dirasakan melalui indera pengecap atau indera peraba. Skala yang digunakan dari tidak lunak (1) sampai dengan amat sangat tidak lunak (5).

Dari Tabel 1 terlihat nilai rata-rata uji mutu hedonik tekstur dimana nilai rata-rata yang dihasilkan mengalami sedikit penurunan dengan bertambahnya kosentrasi garam tetapi dalam rentang sangat lunak (4). Garam yang ditambhkan kedalam tempoyak meningkatkan tekanan osmosa di luar sel dan menyebabkan air keluar sel, sehingga membuat tempoyak menjadi lunak. Semakin tinggi kosentrasi garam maka akan menyumbang banyak air keluar sel sehingga tempoyak akan menjadi lebih berair atau lunak. Menurut Sukowati (2007), tempoyak memiliki karakteristik tekstur yang lunak, berserat halus, lembut agak kental, seperti bubur dan memiliki penampakan yang sedikit berair. Tekstur berair dan lunak pada tempoyak disebabkan oleh degradasi daging durian selama proses fermentasi dan tingginya kandungan air yaitu sekitar 55-66%.

1.d. Aroma

Tempoyak memiliki aroma yang agak tajam yang disebabkan oleh proses fermentasi yang terjadi yang dilkukan oleh BAL. Aroma alkohol yang dihasilkan tempoyak disebabkan oleh buah durian itu sendiri. Durian mengandung alkohol dalam bentuk etanol dan metanol, namun senyawa tersebut tidak stabil sehingga tidak dicantumkan dalam komposisi kimia. Adanya aroma asam dan alkohol pada tempoyak juga dapat disebabkan oleh karena selama proses fermentasi terjadi penguraian gula menjadi alkohol dan selanjutnya alkohol dioksidasi menjadi asam-asam organik (Angraini, 2015).

Hasil rata-rata penilaian panelis terhadap aroma tempoyak dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil penilaian panelis tidak terdapat perbedaan aroma tempoyak dengan penambahan garam, dimana aroma berkisar dari bau agak tajam hingga aroma tajam.

1.e. Penerimaan keseluruhan

Penerimaan keseluruhan merupakan parameter uji kesukaan (hedonik) paling penting, yang merupakan gabungan penilaian dari semua uji hedonik (warna, rasa dan tekstur) Skala yang digunakan dari tidak suka (1) sampai dengan amat sangat suka (5). Dari Tabel 1 terlihat nilai rata-rata penerimaan keseluruhan yang dihasilkan mengalami peningkatan dengan bertambahnya konsentrasi garam (sampai 3%) akan tetapi mengalami penurunan pada konsentrasi garam 4%.

2. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Dari hasil pengamatan koloni bakteri asam laktat, hampir semua koloni berbentuk bulat, warna koloni putih susu dan kekuningan. Menurut Surono (2004) menyatakan bahwa variasi karakteristik bakteri asam laktat normal terjadi, namun yang mutlak ada adalah sifatnya sebagai bakteri Gram positif. Profil bakteri asam laktat dan nilai pH yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi garam yang ditambahkan dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Profil bakteri asam laktat dan nilai pH yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi garam yang ditambahkan.

Konsentrasi garam (%)	TPT (%)	pH	Jumlah koloni BAL (CFU/mL)	Warna koloni	Bentuk koloni
0	1.90	3.95	$3,7 \times 10^6$	Putih kekeruhan	Bulat
1	2.95	3.71	$6,4 \times 10^6$	Putih kekeruhan	Bulat
2	2.47	3.70	$8,3 \times 10^7$	Putih kekeruhan	Bulat
3	3.11	3.64	$2,3 \times 10^6$	Putih kekeruhan	Bulat
4	3.50	3.61	$2,1 \times 10^6$	Putih kekeruhan	Bulat

Dari Tabel 2 juga terlihat bahwa jumlah koloni BAL yang didapat berkisar antara $2,1 \times 10^6$ sampai $8,3 \times 10^7$ CFU/mL. Penambahan garam berfungsi meningkatkan tekanan osmosis, sehingga menyebabkan pelepasan cairan dari bahan dasar yang difermentasi. Cairan yang dihasilkan mengandung gula yang dapat digunakan BAL untuk menghasilkan asam-asam organik, didalamnya juga terdapat protein terlarut, mineral dan zat-zat lain yang dapat digunakan sebagai substrat atau nutrisi bagi BAL untuk pertumbuhannya. Garam dan asam-asam organik yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan mikroba-mikroba penyebab kebusukan, sehingga membuat tempoyak menjadi tahan lama (Yuliana, 2015).

Lebih lanjut, dari Tabel 2 juga terlihat bahwa dengan penambahan garam terdapat kecenderungan penurunan pH, dimana pH berkisar antara 3.61 – 3.95. Hal ini berbanding terbalik dengan TPT, yaitu semakin tinggi nilai TPT semakin rendah pH tempoyak. Semakin rendahnya pH ini diperkirakan karena asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi. Tempoyak mengandung asam organik yang menyebabkan tempoyak jadi asam. Semakin lama waktu fermentasi maka konsentrasi asam-asam organik tersebut semakin meningkat dan diikuti dengan penurunan terhadap pH tempoyak (Yuliana, 2015).

3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Dari hasil pengamatan semua isolat bakteri diketahui BAL berbentuk batang dan gram positif. Karakteristik khusus dari bakteri asam laktat yaitu gram positif karena selnya bewarna ungu tua. Salah satu teknik pewarnaan yang paling penting untuk identifikasi bakteri adalah pewarnaan Gram. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan reaksi kimia, bakteri Gram Positif dan bakteri Gram negatif yang disebabkan adanya lapisan dinding sel bakteri yang berbeda. Kelompok bakteri asam laktat yang berbentuk batang (rod), katalasenya negatif maka tergolong *Lactobacillus* Sneath et al (1986), sedangkan bakteri dengan bentuk bulat dan mempunyai susunan rantai panjang atau pendek termasuk kedalam genus *Streptococcus* (Fardiaz, 1992). Profil bakteri asam laktat berdasarkan sifat morfologi, fisiologi dan biokimia yang dihasilkan berdasarkan konsentrasi garam yang ditambahkan dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Profil bakteri asam laktat berdasarkan sifat morfologi, fisiologi dan biokimia yang dihasilkan berdasarkan konsentrasi garam yang ditambahkan.

Konsentrasi garam (%)	Bentuk sel bakteri	Pewarnaan gram	Uji Katalase
0	Batang	Positif (+)	Negatif (-)
1	Batang	Positif (+)	Negatif (-)
2	Batang	Positif (+)	Negatif (-)
3	Batang	Positif (+)	Negatif (-)

Dalam uji sifat katalase yang dilakukan, semua isolat memperlihatkan hasil negatif seperti terlihat pada Tabel 3. Uji katalase reaksi negatif bila tidak terbentuknya gelembung udara (Wahyudin, 2008). Uji katalase yang dilakukan merupakan salah satu untuk mengidentifikasi mikroba yang menghasilkan enzim katalase yang digunakan untuk memecah hidrogen peroksida (H_2O_2) dan Oksigen (O_2) yang tidak bersifat toksik.

KESIMPULAN

Perbedaan konsentrasi garam akan mempengaruhi karakteristik fisik, kimia dan sensori tempoyak yang terbentuk. Telah berhasil melakukan isolasi dan identifikasi Bakteri asam laktat tempoyak asal Jambi dengan ciri umum BAL yaitu gram positif, berbentuk batang dan uji katalase negatif. Sedangkan analisa sensori karakteristik tempoyak yang dihasilkan adalah bewarna kuning muda, rasa asam, tekstur agak lunak, aroma tempoyak tajam dan disukai panelis penampakan tempoyak secara keseluruhan. Karakteristik fisik dihasilkan dengan pH berkisar antara 3,61 – 3,95 dan total padatan terlarut berkisar antara 1,90 – 3,50.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Jambi yang telah mendanai penelitian ini melalui Program HIBAH DOSEN SENIOR LP2M UNIVERSITAS JAMBI 2017 dan kepada seluruh pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, L., Widawati, L., 2015, Pengaruh Waku Fermentasi Tempoyak Terhadap Sifat Organoleptik Sambal Tempoyak, *Agritepa*, Vol. 1, No.2.
- Drouault S, Corthite G, Ehrlich SD, Renault P, 1999. Survival physiology dan lysis of lactococcus lactis in the digestive tract. *App environ. Microbiol.* 65:4881-4886.
- Hayakawa, K. 1992. Classification and Actions of Food Microorganism with Particular Reference to Fermented Foods and Lactic Acid Bacteria. dalam Yuji Nakazawa and Akiyoshi Hosono (Ed.). *Functions of Fermented Milk: Challenges for the Health Sciences*. London: Elsevier Science Publishers, Ltd.
- Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J* 11:1e17.
- Reid, G. 1999. The scientific basis for probiotic strain of lactobacillus. Mini review. *App. Environ. Microbiol.* 65:3763-3766.
- Sukowati, A., 2007, Karakterisasi Sifat sensori Tempoyak, Skripsi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Yuliana, N., (2007), Perubahan Karakteristik Biokimia Fermentasi Tempoyak Menggunakan *Pediococcus acidilactici* Pada Tiga Konsentrasi Gula, *Agritech*, Vol. 27, No.2.
- _____ (2015), *TEMPOYAK; Ilmu dan Teknologi Pengolahan Durian Fermentasi*, Plantaxi, Bandar Lampung.