

KARAKTERISTIK *LACTOBACILLUS* SPESIES YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI

(Characterization of *Lactobacillus* Species Isolated From Beef)

I.I. ARIEF¹, R.R.A. MAHESWARI¹, T. SURYATI¹ dan N. HIDAYATI²

¹Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan IPB

²Mahasiswa, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan IPB

ABSTRACT

Lactobacillus species is lactic acid bacteria used for fermentation of meat product as starter culture. Studies show that *Lactobacillus* sp. isolated from dadih has less adaptable during meat fermentation process. Isolation of *Lactobacillus* sp. from meat would give a better performance for meat. Fresh meats were obtained from Gunung Batu market, traditional market in Bogor. The samples were stored at room temperature for 9 hours and 24 hours in 15°C. Isolation of bacteria was carried out on MRS agar and incubated at 37°C. Selection of strains were made in agreement with optical morphology, Gram stain and catalase test. Identification of the cultures were based on their ability to ferment different carbon sources. Further identification have been done by Probabilistic Identification of Bacteria for Windows Program (PBWin), bacteria identification software. The characteristics of fresh meat stored for 9 hours post mortem was as follow: pH value: 5.98, mgH₂O: 30,45%, total microbe: 8.0×10^5 cfu/g and 1.3×10^6 cfu/g total lactic acid bacteria, while meat were stored for 24 hours post mortem had characteristics as follows pH value: 5.99, mgH₂O: 37.35%, total microbe: 4.3×10^7 cfu/g and total lactic acid bacteria: 2.0×10^7 cfu/g. There were 8 isolates found. Further identifications showed that all of them were Gram + and negative catalase. Identification based on PBWin showed that four isolate (50%) were *Lactobacillus fermentum*, three isolate (37.5%) was *Lactobacillus brevis* and the other (one isolate/12.5%) was *Lactobacillus plantarum*. Furthermore, all of *Lactobacillus* species can be used as starter culture for fermentation meat.

Key Words: Isolation, *Lactobacillus*, Beef

ABSTRAK

Bakteri asam laktat *Lactobacillus* spesies merupakan salah satu bakteri yang digunakan untuk fermentasi daging. Kultur starter *Lactobacillus* yang diisolasi dari dadih masih kurang adaptif dan kurang optimal untuk fermentasi daging ditandai dengan berfluktuasinya viabilitasnya selama proses. Oleh karena itu, diperlukan bakteri asam laktat yang mampu beradaptasi dan tumbuh dengan baik pada daging. Salah satunya melalui isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. dari daging segar. Daging sapi segar diperoleh dari pasar Gunung Batu, pasar tradisional di Bogor. Isolasi dilakukan dari dua kondisi, yaitu (1) 9 jam *postmortem* pada suhu kamar dan (2) 24 jam *postmortem* pada suhu 15°C. Media tumbuh yang digunakan adalah de Man Rogosa Sharpe Agar dan Broth (MRSA dan MRSB). Karakteristik daging segar yang diamati adalah nilai pH daging, daya mengikat air sesuai petunjuk Hamm. Angka lempeng total bakteri (ALTB) dan jumlah bakteri asam laktat berdasarkan prosedur dari APHA. Seleksi dilakukan dengan pengamatan morfologi, pewarnaan gram dan uji katalase. Selanjutnya dilakukan pengujian sifat biokimiawi dengan uji fermentasi gula. Karakteristik daging sapi 9 jam post mortem adalah sebagai berikut: nilai pH 5,98; nilai daya mengikat air 30,45%; total mikroba $8,0 \times 10^5$ cfu/g dan total bakteri asam laktat $1,3 \times 10^6$ cfu/g. Daging sapi yang disimpan selama 24 jam post mortem mempunyai karakteristik nilai pH 5,99; nilai daya mengikat air 37,25%, total mikroba $4,3 \times 10^7$ cfu/g dan total bakteri asam laktat $2,0 \times 10^7$ cfu/g. Terdapat 8 isolat yang berhasil diisolasi. Semua isolat menunjukkan gram positif dan katalase negatif. Hasil uji biokimiawi (uji fermentasi gula) yang hasilnya diidentifikasi dengan software PIBWin menunjukkan bahwa 4 isolat adalah *Lactobacillus fermentum*, 3 isolat diidentifikasi sebagai *Lactobacillus brevis* dan *Lactobacillus plantarum* diidentifikasi pada 1 isolat. Dengan demikian 50% dari isolat yang diisolasi adalah *Lactobacillus fermentum*, 37,5% adalah *Lactobacillus brevis* dan 12,5% adalah *Lactobacillus plantarum*. Kesemua *Lactobacillus* sp. diharapkan dapat digunakan pada pembuatan daging fermentasi.

Kata Kunci: Isolasi, *Lactobacillus*, Daging Sapi

PENDAHULUAN

Fermentasi merupakan salah satu teknologi pengawetan dan pengolahan bahan pangan, termasuk daging. Produk daging fermentasi telah dikenal di beberapa negara misalnya Italia dengan Salami, Jerman dengan Thuringer, Cina dengan Lup Cheong, Thailand dengan Sai Krok Prew serta Indonesia khususnya di daerah Bali dengan sosis fermentasi yang dikenal dengan nama Urutan. Penerapan teknologi fermentasi daging membutuhkan starter kultur untuk dapat mengendalikan proses fermentasi dan menyeragamkan mutu produk yang dihasilkan. Penggunaan kultur bakteri asam laktat sebagai starter kultur fermentasi daging sangat menguntungkan karena bersifat antisinerjis sehingga produk olahan menjadi lebih awet (HUGAS dan MONFORT, 1997). Starter kultur bakteri asam laktat yang banyak digunakan untuk fermentasi daging antara lain *Pediococcus* dan *Lactobacillus*. Beberapa spesies *Lactobacillus* bersifat sebagai probiotik yang sinergis dengan kondisi lingkungan saluran pencernaan sehingga sesuai dijadikan starter kultur daging fermentasi yang dikonsumsi manusia (LÜCKE, 1997).

Bakteri asam laktat bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, dapat berbentuk bulat atau batang, dengan komposisi basa DNA kurang dari 50% mol G+C, umumnya bersifat katalase negative tetapi kadang-kadang terdeteksi katalase semu pada kultur yang ditumbuhkan pada konsentrasi gula rendah. Untuk tumbuh membutuhkan karbohidrat yang dapat difermentasi (KANDLER dan WEISS, 1995).

Semula bakteri asam laktat diklasifikasikan menjadi 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*, yang didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan tumbuh pada suhu yang berbeda, sifat stereospesifik (D atau L laktik), serta toleransi terhadap asam dan basa. Klasifikasi asam laktat berkembang sehingga *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium* (KANDLER dan WEISS, 1995).

Kultur starter bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp yang diisolasi dari selain daging masih kurang adaptif dan kurang optimal untuk fermentasi daging ditandai dengan berfluktuasinya viabilitasnya selama proses (ARIEF *et al.*, 2003; HAPSARI *et al.*,

2003). Oleh karena itu, diperlukan bakteri asam laktat yang mampu beradaptasi dan tumbuh dengan baik pada daging. Salah satunya melalui isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. dari daging segar.

MATERI DAN METODE

Daging sapi segar otot semimembranosus diperoleh dari pasar Gunung Batu, pasar tradisional di Bogor. Isolasi dilakukan dari dua kondisi, yaitu (1) 9 jam *postmortem* pada suhu kamar dan (2) 24 jam *postmortem* pada suhu 15°C. Media tumbuh yang digunakan adalah de Man Rogosa Sharpe Agar dan Broth (MRSA dan MRSB) sesuai dengan petunjuk OGUNBANWO *et al.* (2003).

Karakteristik daging segar yang diamati adalah nilai pH daging (AOAC, 1995), daya mengikat air sesuai petunjuk Hamm seperti yang dikutip SOEPARNO (1994). Angka lempeng total bakteri (ALTB) dan jumlah bakteri asam laktat berdasarkan prosedur dari APHA (1992).

Isolasi dan identifikasi dikerjakan dengan metode OGUNBANWO *et al.* (2003) dan REQUE *et al.* (2000) termodifikasi. Strain bakteri asam laktat diisolasi dari dua kondisi pelayuan yang berbeda. Tiap sampel diambil 10 g dan ditambahkan dengan 90 ml pengencer steril yang mengandung 0,1% *pepton water* kemudian dihomogenisasi selama 30 detik. Pengenceran dilakukan sampai 10^{-8} ; isolasi dilakukan pada media MRSA (metode *streak plate*) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Kultur dimurnikan dengan mengulangi penggoresan. Kultur murni disimpan pada agar miring MRS di suhu 4°C untuk penggunaan jangka pendek.

Seleksi dilakukan dengan pengamatan morfologi (menggunakan mikroskop), pewarnaan Gram (HADJIOETOMO, 1990) dan uji katalase (LAY, 1994). Identitas kultur disesuaikan dengan karakteristik *L. plantarum* seperti yang tercantum dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan kemampuannya memfermentasi beberapa jenis gula. Jenis gula yang digunakan adalah arabinosa, galaktosa, glukosa, laktosa, maltosa, manitol, raffinosa, rhamnosa, salisin, sorbitol, sukrosa, dan silosa. Sebanyak 2 ml larutan gula dimasukkan ke dalam tabung steril. Sampel

berumur 48 jam sebanyak 4 tetes pipet pasteur ($\pm 100 \mu$) dimasukkan ke dalam media uji, kemudian diinkubasi. Pengamatan dilakukan pada 48 dan 72 jam. Warna kuning menunjukkan adanya fermentasi (+), warna merah (-) dan warna diantar merah dan kuning menunjukkan *dubious* (d). Identifikasi isolat dilakukan dengan menggunakan Program *software Probabilistic Identification of Bacteria for Windows* (PBWin) yang dibuat oleh MAISIN (1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik daging sapi

Daging sapi yang digunakan sebagai sampel untuk isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. mempunyai karakteristik seperti terdapat pada Tabel 1.

Hasil uji karakteristik sampel daging segar yang meliputi sifat fisik yaitu nilai pH dan daya mengikat air serta total mikroba dan total bakteri asam laktat menunjukkan bahwa sampel daging yang diambil adalah daging segar normal yaitu daging yang mempunyai nilai pH 5,00 – 6,00. Total mikroba dan total bakteri asam laktat yang ditemukan pada daging segar 1D yaitu daging yang dilayukan selama 9 jam *post mortem* lebih rendah dibandingkan dengan daging 2D atau daging yang telah mengalami pelayuan 24 jam *post mortem*. Hal ini mengindikasikan bahwa pada kedua jenis daging tersebut dapat dilakukan uji lanjut untuk isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp.

Karakteristik *Lactobacillus* sp. yang berhasil diisolasi

Hasil pemupukan total bakteri asam laktat pada daging 1D dan 2D pada media MRS agar

diambil koloninya dan dilakukan *streaking* untuk selanjutnya diuji pewarnaan gram dan uji katalase untuk menentukan sifat dari bakteri asam laktat tersebut.

Semua sampel menunjukkan hasil Gram positif dengan ditunjukkan hasil pewarnaan yang berwarna biru gelap atau ungu dan katalase negatif dengan tidak dihasilkannya gas H_2O_2 . Hal ini menunjukkan bahwa semua sampel adalah bakteri asam laktat, dan dapat termasuk dalam golongan *Lactobacillus*.

Untuk lebih mengetahui kepastian dari jenis bakteri yang telah diisolasi maka langkah selanjutnya adalah pengujian secara biokimiawi atau melalui uji fermentasi gula.

Uji fermentasi gula adalah uji biokimiawi yang dilakukan untuk dapat menentukan spesies dari satu genus bakteri. Setiap spesies bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam memfermentasikan beberapa jenis gula. Suatu bakteri dinyatakan mampu memfermentasi gula dengan cara merombak gula tersebut menjadi asam organik. Hasil uji fermentasi gula terhadap isolat yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa ketiga isolat bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi termasuk *Lactobacillus*. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari daging sapi yang dijual di pasar tradisional setelah 9 jam *post-mortem* pada suhu kamar.

Berdasarkan Tabel 3, terdapat lebih banyak spesies bakteri asam laktat yang dapat diisolasi dari daging sapi yang disimpan selama 24 jam *post-mortem* yang disimpan pada suhu 15°C dibandingkan dengan daging sapi 9 jam *post-mortem* yang disimpan pada suhu kamar. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat merupakan bakteri yang dapat bertahan selama proses penyimpanan dingin pada produk daging. Bakteri asam laktat yang diisolasi berjumlah 5 isolat yang dideteksi sebagai *Lactobacillus* sp. Setelah dilakukan identifikasi

Tabel 1. Karakteristik sampel daging sapi

Karakteristik urutan sampel	Nilai pH	Nilai daya mengikat air		Total Mikroba (cfu/ml)	Total Bakteri Asam Laktat (cfu/ml)
		mgH ₂ O	%mgH ₂ O		
Sampel daging 1D	5,98	91,335	30,445	$8,0 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$
sampel daging 2D	5,99	111,747	37,249	$4,3 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$

1D = daging yang dilayukan selama 9 jam (*post mortem*) pada suhu kamar

2D = daging yang dilayukan selama 24 jam (*post mortem*) pada suhu 15°C

Tabel 2. Karakteristik isolat yang berasal dari daging sapi 9 jam *post mortem*

Karakteristik	1D1	1D2	1D3
Morfologi			
Bentuk	batang	batang	batang
Warna koloni	putih kekuningan	putih kekuningan	putih kekuningan
Gram	+	+	+
Motilitas	non motil	non motil	non motil
Katalase	-	-	-
Uji biokimiawi (fermentasi gula)			
Arabinosa	+	+	+
Galaktosa	+	+	+
Glukosa	+	+	+
Laktosa	+	D	d
Maltosa	+	+	+
Manitol	-	-	-
Raffinosa	+	+	+
Rhamnosa	-	-	-
Salisin	-	D	d
Sorbitol	-	-	-
Sukrosa	+	+	+
Xilosa	-	D	d
Hasil identifikasi dengan software PIBWin	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>lactobacillus brevis</i>

+: Kemampuan memfermentasi 99%;

d: Kemampuan memfermentasi 50%;

-: Kemampuan memfermentasi 1%

Tabel 3. Karakteristik isolat yang berasal dari daging sapi 24 jam *post mortem*

Karakteristik	2D1	2D2	2D3	2D4	2D5
Morfologi					
Bentuk	batang	batang	batang	batang	batang
Warna koloni	putih kekuningan	putih kekuningan	putih kekuningan	putih kekuningan	putih kekuningan
Gram	+	+	+	+	+
Motilitas	non motil	non motil	non motil	non motil	non motil
Katalase	-	-	-	-	-
Uji biokimiawi (fermentasi gula)					
Arabinosa	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+	+
Laktosa	+	d	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+
Manitol	+	-	-	-	-
Raffinosa	+	+	+	+	+
Rhamnosa	d	-	-	-	-
Salisin	+	d	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Sukrosa	+	+	+	+	+
Xilosa	d	d	-	-	-
Hasil identifikasi dengan software PIB Win	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>

lanjut dengan uji biokimiawi (uji fermentasi gula) maka terdapat 3 isolat yang digolongkan dalam *Lactobacillus fermentum*, 1 isolat *Lactobacillus brevis* dan 1 isolat *Lactobacillus plantarum*.

KESIMPULAN

Bakteri asam laktat dapat hidup dalam daging yang mempunyai pH daging 5,98 – 5,99 baik pada daging sapi 9 jam *post-mortem* yang disimpan pada suhu kamar dan daging sapi 24 jam *post mortem* yang disimpan pada suhu 15°C. Bakteri asam laktat yang dapat diisolasi dari daging sapi berjumlah 8 isolat, 4 isolat (50%) termasuk *Lactobacillus fermentum*, 3 isolat (37,5%) digolongkan dalam *Lactobacillus brevis* dan 1 isolat (12,5%) dikarakterisasikan sebagai *Lactobacillus plantarum*.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. Washington D.C.
- APHA (American Public Health Association). 1992. Standard Methods for the Examination of Dairy Product. 16th ed. Port City Press, Washington DC.
- ARIEF, I.I., R.R.A. MAHESWARI dan T. SURYATI. 2003. Proses Pengempukan Daging Sapi *Dark Firm Dry* (DFD) Melalui Teknologi Fermentasi oleh Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum*. Laporan Penelitian Dasar. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- HADJOETOMO, R. S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. PT Gramedia, Jakarta.
- HAPSARI, D., L. IRAWATI, IRFAN dan P. SANDRA. 2003. Peningkatan kualitas mikrobiologi daging sapi *dark firm dry* (DFD) melalui proses fermentasi menggunakan kultur starter *Lactobacillus plantarum*. Laporan Penelitian PKM. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- HUGAS, M. and J. M. MONFORT. 1997. Bacterial starter cultures for meat fermentation. Food Chemistry (59)4: 547 – 554.
- KANDLER, O. and N. WEISS. 1995. Bergeys Manual : Systematic Bacteriology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, M.D
- LAY, B.W. 1994. Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- LÜCKE, F.K. 1997. Fermented sausages. In: Microbiology of Fermented Foods. WOOD, J.B. (Ed.). Elsevier Applied Science, New York.
- MAISSIN, 1987. Bacterial Identification Program – *Lactobacillus* species (software). *Belgian J. Food Chem. Biotech.* (42): 176 – 183.
- OGUNBANWO, S.T., A.I. SANNI and A.A. ONILUDE. 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African J. Biotechnol.* 2(8): 219 – 227.
- REQUE, E.F., A. PANDEY, S.G. FRANCO and C.R. SOCCOL. 2000. Isolation, identification and physiological study of *Lactobacillus fermentum* LPB for use as probiotic in chickens. *Brazilian J. Microbiol.* 31(4)
- SOEPARNO. 1994. Ilmu dan Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.