

JURNAL BIOSAINS

Lampiran
2.5

ISSN : 0215-9333

Desember 2002

Volume 7 No. 2

1. **Isolasi dan identifikasi bakteri dalam Badeg Pace dari Ponorogo Jawa Timur**, Abu Amar, Setiarti Sukotjo dan Lie Suan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Teknologi Indonesia. 1 – 7
2. **Pengaruh *n-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* pada produktivitas vitamin B₁₂ oleh *Pseudomonas denitrificans***, Danang Waluyo, Nurzamilah dan Eka Siska, Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT. 8 – 12
3. **Perbedaan ukuran protein CarA *Salmonella typhi* DAN CarA Manusia yang dideteksi dengan metode *Western Immunoblotting***, Muktiningsih, A.S. Noer, E. Purwantini dan Oei Ban Liang, PPAU Bioteknologi ITB. 13 – 18
4. **Struktur populasi ikan Anggoli (*Pristipomoides multidens*) Dengan analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) mt-DNA***, Sari Budi M., Haryanti, G.N. Permana dan K. Sugama, Balai Besar Riset Budidaya Laut. 19 – 24
5. **Deteksi viral Nervous Necrosis (VNN) benih kerapu macan produk Hatcheri dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)***, Susanto B., K. Mahardika, Haryanti, dan I.G.N. Permana, Balai Besar Riset Budidaya Laut. 25 – 30

JURNAL BIOSAINS

Volume 7 Nomor 2, Desember 2002

Jurnal ber-refree, diterbitkan dua kali setahun, berisi hasil penelitian dan ulasan ilmiah dalam bidang biosains

Dewan Redaksi

Prof. Dr. Ir. Wisjnuprpto, Dipl, SE. (Ketua)
Prof. Dr. Umar Anggoro Jenie
Dr. Ir. Slamet Budijanto, M.agr.
Dr. Ir. Y. Marsono, MS
Dr. Ir. Kashwar Syamsu
Dr. Ir. Komang G. Wiryawan
Dr. Sukrasno

Redaksi Pelaksana

Dr. Debbie S. Retnoningrum
Ir. V. Sri Harjati Suhadi, Ph.D

Dewan Penyantun

Kepala PAU Bioteknologi UGM
(Prof. Dr. Ir. Joedoro Soedarsono)
Kepala PAU Pangan dan Gizi UGM
(Dr. Ir. Tranggono)
Kepala PAU Bioteknologi IPB
(Dr. Ir. Machmud Tohari)
Kepala Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB
(Dr. Ir. Adil Basuki Ahza)
Kepala Pusat Studi Ilmu Hayati IPB
(Prof. Dr. Ir. Doddy Nandika)
Kepala KPP Bioteknologi ITB
(Dr. Debbie S. Retnoningrum)
Kepala KPP Ilmu Hayati ITB
(Dr. I. Nyoman pugeg Aryantha)

Makalah-makalah dalam terbitan ini direview oleh :

Dr. A. Syaifuddin Noer, Dr. Debbie S. Retnoningrum, Dr. Dessy Natalia, Dr. Ernawati Giri Rahman, Dr. I. Nyoman Pugeg Aryantha, Dr. Ir. Linawati, Dr. Maelita R. Moeis, Dr. Pingkan Aditiawati, M.Sc., Dr. Ir. Sri Harjati Suhardi, Dr. Wardono Niloperbowo

Alamat Redaksi

KPP Bioteknologi ITB
Jl. Ganesa 10 Bandung, 40132
Telp/Fax : (022) 2504256 dan 2504987 pes. 1367
E-mail: research@biotech.itb.ac.id

Diterbitkan oleh 7 PAU Biosains (PAU Bioteknologi ITB, IPB dan UGM; PAU Ilmu Hayati ITB dan IPB; PAU Ilmu Pangan dan Gizi IPB dan UGM)

Akreditasi Dikti No. 69/DIKTI/Kep/2000

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DALAM BADEG PACE DARI PONOROGO JAWA TIMUR

Abu Amar, Setiarti Sukotjo, dan Lie Suan

Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Teknologi Indonesia, Jalan Raya
Puspiptek, Serpong, Tangerang 15320
abuamari@hotmail.com

ABSTRAK

*Isolasi dan identifikasi bakteri yang terlibat di dalam proses pembuatan Badeg Pace yang berasal dari Ponorogo Jawa Timur telah dilakukan. Proses pembuatan Badeg Pace dari Ponorogo belum mempunyai standard baku. Masing-masing produsen Badeg Pace mempunyai cara pembuatan yang berbeda-beda. Badeg Pace adalah minuman tradisional yang berasal dari buah Pace (Morinda citrifolia, L) yang masak dengan atau tanpa proses peragian dan umumnya sebelum dibotolkan ditambahkan gula sehingga berasa manis. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi bakteri indigenous yang tumbuh dan terlibat selama proses pembuatan Badeg Pace. Isolasi dan identifikasi yang telah dilakukan menghasilkan tiga jenis isolat bakteri. Dua diantaranya adalah kelompok bakteri asam laktat yaitu, genus *Pediococcus* dan *Lactobacillus delbrueckii* yang dapat digunakan dalam Badeg Pace sebagai mikroba efektif dan diharapkan dapat meningkatkan kualitas Badeg Pace. Jenis isolat yang ke tiga adalah *Bacillus coagulans* yang dapat memproduksi sejumlah asam laktat dari substrat gula. Keberadaan bakteri tersebut akan mempengaruhi cita rasa dari Badeg Pace terutama rasa asam dan aroma yang khas. Namun demikian diketahui secara umum bahwa *Bacillus coagulans* termasuk bakteri perusak bahan pangan yang perlu dihilangkan dari Badeg Pace.*

Kata kunci: *Isolasi, Identifikasi, bakteri asam laktat, Badeg Pace.*

ABSTRACT

*Isolation and identification of bacteria involve in Badeg Pace manufacturing process had been carried out. The manufacturing process of Badeg Pace from Ponorogo has not yet been standardized. Every Badeg Pace producer has determines its own preparation method. Badeg Pace is a traditional drink prepared from ripe Noni fruits (Morinda citrifolia, L) with or without fermentation process and before bottling sugar is added to give sweet taste. The primary aim of this research was to explore the indigenous bacteria grow during Badeg Pace process. It had been identified three isolates from Badeg Pace. Two of them were lactic acid bacteria namely the genus of *Pediococcus* and *Lactobacillus delbrueckii*, which might be used in Badeg Pace as an effective micro organism and to improve the quality of Badeg Pace. The third was *Bacillus coagulans*, which can produce considerable amounts of lactic acid from sugar. The existences of those bacteria cause the sourness and specific taste and flavour of Badeg Pace. However, it is generally known that *Bacillus coagulans* belongs to food spoilage bacteria, which has to be removed.*

Keywords: *isolation, identification, lactic acid bacteria, Badeg pace.*

PENDAHULUAN

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L), di Jawa Timur dikenal dengan nama Pace adalah tanaman Indonesia yang berguna sebagai tanaman obat. Tumbuhan ini walaupun berasal dari Asia Tenggara namun manfaat tanaman ini khususnya yang berkaitan dengan aspek kesehatan sudah dikenal mulai di negara-negara Eropa, Amerika, Australia dan juga di negara-

negara yang tersebar di Samudra Pasific di kepulauan Hawaii dan di kepulauan Fiji. Tanaman Pace semakin populer sejak ditemukannya zat alkaloid *xeronin* dan pemicunya *proxeronin* dalam sari buahnya oleh Heinicke pada tahun 1972 dalam Waha (2000). Hal ini didukung oleh penelitian Solomon dalam Waha (2000) tentang khasiat buah mengkudu yang terbukti dapat membantu pemulihan sejumlah

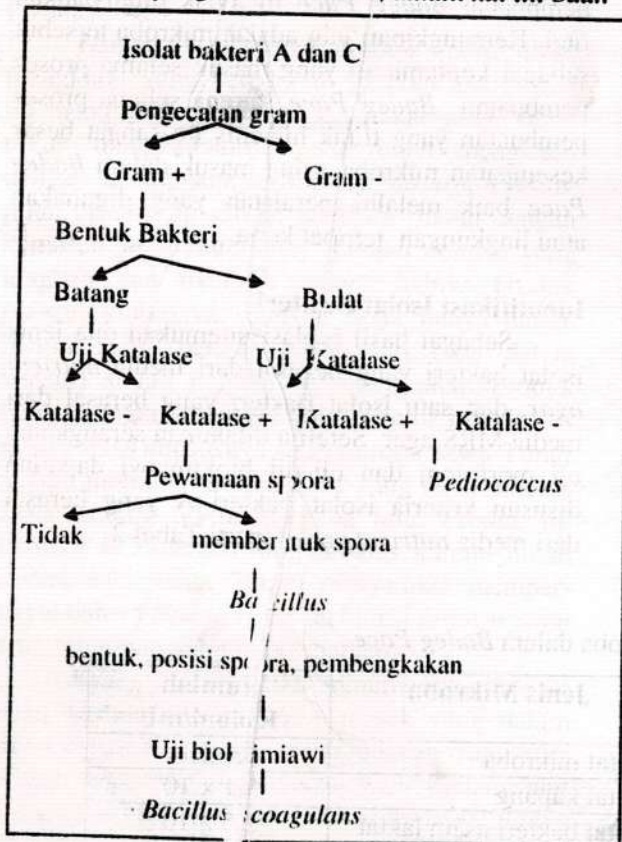
Tabel 2. Perbandingan karakteristik isolat bakteri A dengan genus *Pediococcus* sebagai referensi

Kriteria	Isolat Bakteri A	Genus <i>Pediococcus</i> (Buchanan and Gibbons 1974)
Morfologi Koloni	Pada Nutrient agar koloni berwarna putih, licin, elevasi datar dengan ukuran diameter 1-2,5mm	-
Bentuk bakteri	Bulat, tunggal, sedikit yang berpasangan, tidak dijumpai yang tetrad.	Bulat, tunggal, bentuk berpasangan atau tetrad tetapi jarang.
Pengecatan Gram	+	+
Endopsora	Tidak ada	Tidak ada
Motilitas	Non Motil	Non Motil
Liquifikasi Gelatin	-	-
Uji Nitrat	Tidak mereduksi Nitrat	Tidak mereduksi Nitrat
Uji Fermentasi karbohidrat (KH)		
- Glukosa	+ (Asam) tapi gas -	+ (Asam) tapi gas -
- Fruktosa	+ (Asam), tapi gas -	+ (Asam) tapi gas -

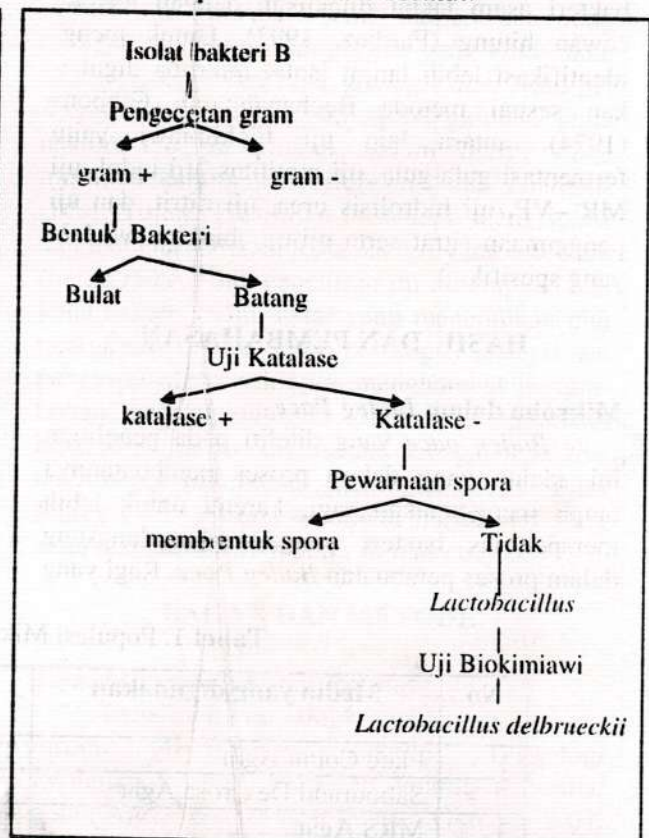
Keterangan : (+) dihasilkan; (-) tidak dihasilkan

Berdasarkan perbandingan kriteria tersebut maka isolat bakteri A dimasukkan ke dalam genus *Pediococcus*. Diketahui bahwa jenis genus *Pediococcus* banyak dijumpai pada materi tumbuhan yang terfermentasi, dalam hal ini buah

pace yang dipakai penjual jamu sudah dalam bentuk yang masak atau terfermentasi secara alamiah. Secara keseluruhan alur kerja identifikasi bakteri genus *Pediococcus* seperti tercantum pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Alur kerja identifikasi isolat bakteri A dan C



Gambar 2. Alur kerja identifikasi bakteri B

Identifikasi Isolat Bakteri B (koloni yang berasal dari MRS Agar)

Hasil identifikasi isolat bakteri B kriterianya dibandingkan dengan *Lactobacillus delbrueckii* pada Tabel 3. Jenis isolat bakteri B diidentifikasi sebagai *Lactobacillus delbrueckii* walaupun ada beberapa uji fermentasi: Arabinosa, Sellobiososa dan Mannosa tidak dilakukan.

Namun tingkat kemiripannya cukup besar sebagai bakteri *L delbrueckii*, bakteri asam laktat ini mampu memproduksi asam laktat melalui jalur Emden Meyerhof Parnas (Fradiatz, 1988) dalam jumlah besar yaitu 90% hasil fermentasi glukosanya menghasilkan asam laktat. Secara lengkap urutan identifikasi isolat bakteri B dapat dilihat pada Gambar 2 di atas.

Tabel 3. Perbandingan karakteristik isolat bakteri B dengan *Lactobacillus delbrueckii* sebagai referensi

Kriteria	Isolat bakteri B	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> (Bucchanans and Gibbons 1974)
Morfologi Koloni MRS Agar	Koloni berwarna putih, licin, mengkilap, ukuran 1mm, elevasi cembung.	-
Pengecatan Gram	+	+
Bentuk banteri	Batang	Batang
Endopsora	Ada	Ada
Uji Katalase	-	-
Motilitas	Non motil	Non motil
Uji Fermentasi Karbohidrat (KH)		
Arabinosa	Tidak dilakukan	-
Sellobiososa	Tidak dilakukan	-
Fruktosa	+	+
Galaktosa	-	#(lemah atau negatif)
Glukosa (asam)	+	+
Laktosa	-	-
Maltosa	+(11-89%)	d (beberapa galur +)
Manitol	-	-
Mannosa	Tidak dilakukan	+
Melezitosa	-	-
Melibiosa	-	-
Raffinosa	-	-
Rhamnosa	-	-
Ribosa	-	-
Salisin	-	-
Sorbitol	-	-
Sukrosa	+	+
Trehalosa	-	-
Xylosa	-	-

Keterangan : (+) dihasilkan; (-) tidak dihasilkan

Identifikasi Isolat Bakteri C (koloni yang berasal dari Nutrient Agar)

Hasil identifikasi isolat bakteri C kriterianya dibandingkan dengan *Bacillus coagulans* (Bucchanans dan Gibbons, 1974) pada tabel 4. Berdasarkan kriteria pada Tabel 4 di atas, maka isolat bakteri C diidentifikasi sebagai Bakteri *Bacillus coagulans*, walaupun tingkat kemiripannya tidak 100%. Hal ini diyakini pada posisi spora, bentuk spora dan sifat biokimiawi lainnya. Secara lebih lengkap alur kerja identifikasi isolat bakteri C dapat dilihat pada Gambar 1.

Isolat bakteri A (Genus *Pediococcus*) dan B (*Lactobacillus delbrueckii*) adalah termasuk bakteri asam laktat, hal ini sangat menguntungkan karena bakteri laktat dapat bertindak sebagai pengawet alamiah (Fardiaz, 1988). Dengan demikian tanpa bahan pengawetpun jenis minuman ini akan tahan lama. Bahkan jenis bakteri asam laktat tertentu yang bersifat probiotik dapat mempengaruhi kandungan kolesterol dalam darah (Schneider dkk, 1998). Keberadaan bakteri asam laktat yang cukup

mendominasi dalam produk dimungkinkan oleh tingkat keasaman yang relatif rendah pada *Badeg pace*. Namun, dalam *Badeg Pace* ini ditemukan juga isolat bakteri C (*Bacillus coagulans*) yang bersifat termofilik (Frazier dan Westhof, 1988) dan diketahui sebagai penyebab perusakan pada bahan pangan. Oleh karena itu keberadaannya harus dihilangkan. Dengan proses yang aseptis tentu saja *Bacillus coagulans* dapat dicegah keberadaannya dalam *Badeg Pace*. Jika memungkinkan, secara sengaja diinokulasikan bakteri asam laktat pada proses pembuatan badeg pace misalnya setelah penambahan gula dan sebelum proses pembotolan. Dengan demikian populasinya dapat mendominir dan mengontrol secara ekologis bakteri yang ada dalam badeg pace. Bakteri *Pediococcus* dan *Lactobacillus delbrueckii* dapat menghasilkan asam laktat, sehingga mampu menurunkan pH badeg pace sekitar 3-4. Standarisasi pembuatan badeg pace perlu dilakukan agar diperoleh badeg pace yang kaya akan asam laktat tanpa mengandung *Bacillus coagulans*.

Tabel 4. Perbandingan karakteristik isolat bakteri C dengan *Bacillus coagulans* sebagai referensi

Kriteria	Isolat bakteri C	<i>Bacillus coagulans</i>
Morfologi koloni pada NA	Tidak beraturan, menyebar, tepian berlekuk elevasi datar, warna krem	-
Pengecatan Gram	+	+
Bentuk bakteri	Batang	Batang
Endospora	Ada, ellips, tempat antara tengah dan ujung Mengalami pembengkakan.	Ada, ellips, tempat antara tengah dan ujung Mengalami pembengkakan.
Motilitas	Motil (+)	Motil (+)
Uji fermentasi KH		
Arabinosa	d (positif 11-89%)	d (positif 11-89%)
Glukosa	asam (+), asetoin +/-, Gas (-)	asam (+), asetoin +/-, Gas (-)
Mannitol	+	d (positif 11-89%)
Xylosa	d (positif 11-89%)	d (positif 11-89%)
Produksi indol	-	-
Nitrat	+	d (positif 11-89%)
Uji VP	+	+/-
Uji Urease	-	-
Sitrat	-	-

Keterangan : (+) dihasilkan; (-) tidak dihasilkan

KESIMPULAN

Jenis bakteri yang teridentifikasi dalam minuman *Badeg Pace* ada tiga macam yaitu genus *Pediococcus*, *Lactobacillus delbrueckii* dan *Bacillus coagulans*. Namun untuk meyakinkan identifikasi ketiga jenis isolat yang ditemukan perlu uji genetis selain uji biokimiawi yang telah dilakukan. Bakteri asam laktat yang ditemukan berpotensi sebagai pengawet minuman *Badeg Pace*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada BPPT, FTT ITI dan PT Agrotek Morindatama karena penelitian ini sebagian dari Hasil Riset Unggulan Kemitraan Mengkudu yang pembiayaannya berasal dari kerja sama antara Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT dan Fakultas Teknologi Pertanian ITI serta PT Agrotek Morindatama Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Amar, A dan A. S. Handayani**, 2001. *Identifikasi Teknologi untuk Pengembangan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia)*. Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Indonesia, Serpong.
- Buchanan, R.E and N.E Gibbons**, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight Edition. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Fardiaz, S.** 1988 *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas IPB, Bogor.
- Fardiaz, S.** 1993 *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Frazier W.C and Westhof**, 1988 *Food Microbiology*, Fourth edition. Mc Graw Hill Publishing Co., Ltd., New York.
- Nishigaki, T.** 2001 *Pharmacology of Noni Juice*. Diskusi Ilmiah Sehat dengan Mengkudu, Sabtu 24 Februari 2001, Bogor.
- Schneider, J., G. Schaarmann, A. Zorn, G. Jahreis., K. Schubert, C. Vilser, U. A Mueller**, 1998, *Ernaehrungswissenschaft* 1 pp. 88-89.
- Waha, M.G.**, 2000. *Sehat dengan Mengkudu*. MSF Group, Jakarta.