

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus* sp) from Sauerkraut with the addition of Cayenne Pepper

Resti Fevria¹, Indra Hartanto ¹

Department of Biology FMIPA , Universitas Negeri Padang^{1*}

Email corespondence: restifevria.rf@gmail.com

Abstract. Sauerkraut is cabbage that is produced from natural fermentation by bacteria in the presence of 2.5 percent salt. Salt additions limits the activity of gram –negative bacteria, while the growth of lactic acid bacteria will increase. Chili is a vegetable of the genus *Capsicum* which has high economic value and also contains various compounds that are useful for human health. One method to get good quality cayenne is fermentation. Fermentation is part of biotechnology that uses microorganisms as the main actors in a process. One of the microbes that determines the success of fermentation is lactic acid bacteria. The purpose of this study is isolate LAB from Sauerkraut with the additional cayenne pepper the type of LAB produced microscopically. Research methods, the ingredients used are cabbage and cayenne fermentation (sauerkraut with the additional cayenne pepper), MRSa, 0,9% NaCl, crystal violet paint from biological laboratories UNP. Isolation LAB from Sauerkraut done in with fermentation Sauerkraut and then plant the sauerkraut into the MRSa medium with streak plate methods. The isolates obtained were identified microscopically using a microscope with gram staining method. From the research that has been done, the following result are obtained : Sauerkraut with additional cayenne pepper directly into MRSa medium and gram staining, there were 12 colonies of gram positive bacteria with bacil cell form, and negative catalase test. We can identify this colonies as *Lactobacillus* sp.

Keywords : Isolation, Sauerkraut, Cayenne Pepper, Lactic Acid Bacteria, *Lactobacillus* sp.



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
©2017 by author.

1. PENDAHULUAN

Sauerkraut (suerkhol) adalah terminology yang berasal dari Jerman yang popular digunakan secara Internasional sebagai nama “Kubis asam” yaitu hasil fermentasi asam laktat dari rajangan kubis putih dengan panjang sekitar 20 cm dan lebar 2 mm sampai dengan 5 mm.

Kubis (*Brassica oleracea*) adalah suatu jenis tanaman yang sudah lama dikenal dan digunakan manusia untuk berbagai keperluan, berasal dari berbagai tempat didaratan Eropa. Dokter-dokter Yunani dan Romawi menggunakan kubis sebagai obat untuk berbagai jenis penyakit.

Cabe adalah sayuran dari genus *Capsicum* yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan juga mengandung berbagai senyawa yang berguna bagi kesehatan manusia termasuk bakteri asam laktat. Salah metode untuk mendapatkan cabe rawit dengan kualitas yang baik adalah fermentasi. Fermentasi adalah bagian dari bioteknologi yang menggunakan mikroorganisme sebagai pemeran utama dalam prosesnya. Salah satu mikroba yang menentukan keberhasilan fermentasi adalah bakteri asam laktat.

Sauerkraut dapat dibuat secara sederhana dengan menambahkan garam dan potongan cabe rawit 2.5% rajangan kubis, lalu dikemas dalam suatu wadah lalu didiamkan untuk difermentasi. Fermentasi dilakukan dalam kondisi anaerob. Kondisi anaero dapat dapat dicapai dengan cara menutup bagian mulut wadah dengan tutup yang rapat. Apabila dibuat dengan cermat, dengan jumlah garam dan temperatur yang tepat, diblur garam dengan sempurna dan dikemas dengan rapat, maka produk akhir yang dihasilkan akan superior.

Metoda-metoda yang digunakan untuk pembuatan sauerkraut dewasa ini telah berkembang dengan meningkatnya pengetahuan tentang hal-hal yang berlangsung dalam fermentasi. Sampai akhir-akhir ini, pembuatan sauerkraut masih berdasarkan naluri yang dalam banyak hal menyebabkan sauerkraut bermutu inferior atau busuk. Pada tahun 1990, studi-studi baru mulai dirancang untuk lebih banyak mempelajari proses dan pengaruh factor-faktor lingkungan untuk mengembangkan metoda-metoda yang didalam batas-batas tertentu dapat menstandarisasi mutu produk sauerkraut yang dihasilkan.

Saat ini, beberapa bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari makanan fermentasi diantaranya adalah strawberry (Resti, 2018), markisa kuning (Sari, 2013) dan markisa ungu (Fatimatuz zahro, 2014), tomat (Resti, 2018). Berdasarkan hal diatas maka dilakukan penelitian, Isolasi Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus sp*) dari Sauerkraut dengan penambahan cabe rawit.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi UNP pada agustus – September 2019, dengan prosedur:

a. Bahan

Penelitian ini menggunakan objek kol dan cabe rawit yang dibeli dari pasar Kota Padang Panjang. Kemudian bahan difermentasi dengan penambahan garam 2,5% dan cabe rawit 2,5%. Bagian yang akan diteliti adalah hasil fermentasi yang dikenal dengan sauerkraut. Dan medium yang digunakan adalah Medium de Men Rogrosa Sharpe (MRS) agar Marks, NaCl 0,9%, larutan H₂O₂ 3%, cat Kristal violet, cat lugol iodine,

alcohol 96% dan safranin yang diperoleh dari Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.

b. Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah toples, pisau cutter, timbangan analitik, labu ukur, labu Erlenmeyer, cawan petri, incubator, laminar air flow, autoclave, kaca objek, hot plate, pinset, Bunsen, cawan porselin, spatel logam, ose gores, rak tabung, mikroskop.

c. Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan Sampel (Pembuatan Sauerkaraut)

Proses pembuatan sauerkaraut meliputi :

- a. Persiapan bahan dan sortasi yaitu memilih kubis dan cabe rawit segar, dan tidak busuk
- b. Mencuci dengan menggunakan air yang mengalir dan bersih
- c. Hati kubis dibuang dan daunnya diambil
- d. Memotong daun kubis dengan ukuran lebih kurang 0,5 cm
- e. Penimbangan
- f. Pencampuran sampai rata garam 2,5%, cabe rawit 2,5% perlakuan
- g. Hasil pencampuran dimasukkan dalam toples fermentasi lalu ditekan secara pelan-pelan sampai air keluar dan menutupi seluruh permukaan media (potongan kubis)
- h. Apabila airnya tidak banyak dapat diberi beban supaya dapat tertutup seluruh permukaan media dengan rata.
- i. Toples ditutup dengan rapat
- j. Fermentasi dalam suhu ruangan selama 4 hari
- k. Hasil fermentasi (sauerkraut) selanjutnya dianalisis.

2. Penanaman Sampel.

Penanaman sampel dapat dilakukan dengan cara, sterilisasi permukaan sampel yang dipotong secara aseptik, kemudian dimasukkan kedalam toples yang sudah disterilisasi dan ditutup dengan aluminium foil dan inkubasi selama 5 hari. Setelah itu langsung distreak kan medium MRS dengan menggunakan jarum ose. Setelah proses inkubasi selesai dilanjutkan dengan mengisolasi koloni-koloni yang tumbuh masing-masing berdasarkan perbedaan morfologi koloni bakteri dalam cawan petri setiap kuadran.

Dilakukan isolasi sampai diperoleh isolate atau koloni tunggal dari tiap cawan petri.

3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat yang diperoleh diidentifikasi dengan metode makroskopik, dengan melihat langsung morfologi isolate bakteri yang tumbuh pada medium meliputi bentuk dan warna bakteri. Dan metode mikroskopik dengan menggunakan mikroskop dengan metode pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan

mengoleskan bakteri diatas objek glass, difiksasi lalu ditetesi cat gram A, diamkan selama 1 menit, ditetesi cat gram B, diamkan selama 1 menit, ditetesi cat gram C, diamkan selama 30 detik, ditetesi cat gram D, diamkan 2 menit. Kemudian ditutup dengan cover glass dan ditetesi dengan minyak emersi lalu diamati bentuk dan warna sel.

4. Uji Katalase.

Uji Katalase merupakan suatu pengujian terhadap bakteri tertentu apakah bakteri tersebut merupakan bakteri aerob, anaerob fakultatif, atau anaerob fakultatif, caranya adalah 1) mengambil biakan bakteri. 2) Meneteskan satu tetes H₂O₂ kedalam biakan bakteri 3) Mengamati hingga terdapat gelembung atau tidak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Dari penelitian yang telah dilakukan yaitu isolasi bakteri asam laktat dari sauerkraut dengan penambahan cabe rawit berhasil diisolasi bakteri asam laktat, yang memperlihatkan adanya koloni yang berwarna putih susu, dan memiliki zona halo yang tumbuh setelah proses inkubasi pada suhu 37°C dengan waktu tumbuh rata-rata 40 jam.

Fermentasi sauerkraut dengan penambahan cabe rawit merupakan fermentasi secara alami yang dilakukan tanpa penambahan mikroba dari luar (starter) dan terjadi dengan sendirinya dengan bantuan mikroflora indigen. Carl (1971) mengatakan bahwa karakteristik dari proses ini adalah adanya bakteri asam laktat yang termasuk bakteri heterofermentatif.

Gambar 3.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sauerkraut dengan penambahan cabe pengamatan 36 jam dari pengenceran 10⁶ pada medium




Berdasarkan gambar diatas bakteri asam laktat yang dapat diisolasi terdiri dari 12 koloni. Bakteri asam laktat diisolasi untuk menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik. Manfaat bagi kesehatan diantaranya memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan bakteri pathogen dalam saluran pencernaan, penurunan serum kolesterol, menghambat tumor, kanker, antimutagenik dan antikarsinogenik. Konsumsi prebiotik dapat menimbulkan efek terapeutik pada tubuh dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989)

B. Identifikasi Isolat Hasil Isolasi

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis gram dari isolat bakteri, yang merupakan penentuan karakteristik isolate berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Hasil pewarnaan gram pada keseluruhan isolat bakteri sauerkraut dengan penambahan cabe rawit adalah positif, yaitu sel bakteri berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan gram. Hasil uji pewarnaan gram terhadap isolat menghasilkan beberapa isolat yang memiliki bentuk morfologi sel batang dengan susunan berantai, dan diduga isolate ini merupakan genus *Lactobacillus*. Menurut Sneath (1980), berdasarkan *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, kelompok bakteri asam laktat berbentuk batang yang mempunyai katalase negative dan hasil pengecatan gram bersifat positif merupakan bakteri asam laktat genus *Lactobacillus*. Morfologi BAL hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 3.2

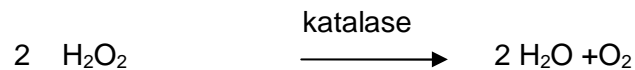
Gambar 3.2 Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sauerkraut dengan penambahan cabe secara makroskopik dengan pewarnaan gram

Kode isolate	Morfologi koloni	Gambar koloni	Pewarnaan Gram +/-
S+C	Bentuk : bundar Tepian : licin Elevasi : datar Warna : puti susu Ukuran : sedang		 Gram : Positif Bentuk sel : <i>Bacil</i>

Bakteri gram positif mempunyai ciri dinding sel dengan peptidoglikon yang lebih tebal sehingga penyerapan warna dari cat Kristal violet yang terserap dalam sel akan bertahan walaupun dilakukan pencucian menggunakan cat peluntur (larutan alcohol-lugol) yang diharapkan dapat melunturkan cat warna pertama.

b. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan setelah pewarnaan gram, pada isolate bakteri yang termasuk gram positif. Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolate dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Raharjo (2012) mengatakan bahwa enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogenperoksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim katalase terhadap H_2O_2 adalah:



Uji katalase ini dilakukan dengan meneteskan 1-2 tetes H_2O_2 3% pada isolat BAL yang telah diinkubasi selama 24 jam. Hasil uji katalase pada 12 isolat bakteri menunjukkan hasil negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung gas yang berisi oksigen ketika isolat ditetesi dengan larutan H_2O_2 . Hal ini sesuai dengan penelitian Stamer (1979) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif.

5. KESIMPULAN

- a. Isolat bakteri asam laktat dari sauerkraut dengan penambahan cabe rawit mempunyai karakteristik secara makroskopik yaitu bentuk bundar, tepian licin, elevasi timbul warna putih susu dan ukuran kecil.
- b. Hasil identifikasi bakteri asam laktat dari sauerkraut dengan penambahan cabe rawit merupakan bakteri gram positif dengan bentuk sel bacill, dari pewarnaan gram dan katalase negatif dari uji katalase.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan FMIPA, Ketua Jurusan Biologi dan jajarannya, Kepala Laboratorium Biologi dan jajaran atas izin melaksanakan penelitian serta semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ibrahim Arsyik, et al. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari buah Mangga (*Mangifera indica* L.) Jurnal Ilmiah Manuntung, 1(2), 159-163,2015. Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.
- Carr, F. J., D. Chill, and N. Maida. 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Crit. Rev. Microbiol.*
- Fevria, Resti. 2016. Strategi Pengembangan Produk Susu di Kota Padang Panjang. Saini Jurnal Ilmiah Teknologi Industri. Unit Penelitian Politeknik ATI Padang.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in Man and Animals. *Journal Application Bacteriol.* Vol.66. No. 1: 365-378.
- Malik, et al. 2008. Skrining Gen Glukosiltransferase (GTF) dan Bakteri Penghasil Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida, Makara Sains. Vol.12 No.1:1-6
- Pelczar, M.J., and E. C. S. Chan. 1986. *Dasar Dasar Mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. hal:489-522.
- Sari, Yuni et al. 2013. Isolasi, karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang berpotensi sebagai antimikroba dari fermentasi Markisa Kuning. Jurnal Kimia Universitas Andalas Vol.2 No.2
- Sneath, P.H.A, N.S. Mair, M.E. Sharpe, dan J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2. *Baltimore*: Williams and Wilkins.
- Zahro Fatimatuz. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu sebagai penghasil eksopolisakarida, Jurusan Biologi, Fakultas Sain dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang