

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA MANDAI MAKANAN TRADISIONAL NANGKA
(*Artocarpus heterophyllus* Lamk) VAR. SALAK,
GUNUNG PATI**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID
BACTERIA ON MANDAI TRADITIONAL FOOD MADE
FROM JACKFRUIT (*Artocarpus heterophyllus* Lamk)
VAR. SALAK, GUNUNG PATI**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat-syarat guna
memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh :

ELKE NOVIONALITA HARTANTO

08.70.0025

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
SEMARANG**

2012

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA MANDAI MAKANAN TRADISIONAL NANGKA
(*Artocarpus heterophyllus* Lamk) VAR. SALAK,
GUNUNG PATI**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID
BACTERIA ON MANDAI TRADITIONAL FOOD MADE
FROM JACKFRUIT (*Artocarpus heterophyllus* Lamk)
VAR. SALAK, GUNUNG PATI**

Oleh:

ELKE NOVIONALITA HARTANTO

NIM : 08.70.0025

Program Studi : Teknologi Pangan

Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
di hadapan sidang penguji pada tanggal: 22 Juni 2012

Semarang, 22 Juni 2012

Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Katolik Soegijapranata

Dekan,

Pembimbing I,

Ir. Lindayani, MP, PhD

Ita Sulistyawati, STP. MSc.

Pembimbing II,

Dra. Laksmi Hartayanie, MP

RINGKASAN

Bakteri Asam Laktat merupakan jenis bakteri yang menguntungkan karena dapat berperan sebagai pengawet makanan alami dan aman serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari makanan hasil fermentasi, seperti mandai nangka. Mandai merupakan makanan tradisional khas Kalimantan Selatan yang terbuat dari dami nangka atau dami cimpedak yang difermentasi dengan penambahan 15% (w/w) garam lalu ditambahkan 500 ml air dan diperam selama 7 hari untuk proses fermentasinya. Dami nangka digunakan sebagai bahan utama yang difermentasi pada penelitian ini sebagai upaya pemanfaatan limbah dari buah nangka yang biasanya dibuang atau dijual dengan harga murah. Nangka yang digunakan berasal dari daerah Gunung Pati. Metode pengujian meliputi uji total asam tertitrasi, isolasi dan pemurnian, serta identifikasi bakteri asam laktat. Isolasi dan pemurnian bakteri asam laktat dilakukan dengan media *de Man Rogosa Sharpe* Agar (MRS Agar) dan CaCO_3 . Metode identifikasi bakteri asam laktat yang terdapat dalam mandai nangka dilakukan dengan uji karakter morfologikal (bentuk sel, pembentukan spora, dan pewarnaan gram), produksi gas, uji katalase, uji motilitas, serta uji kemampuan tumbuh pada berbagai suhu, pH dan konsentrasi NaCl. Pada tahap akhir diidentifikasi dengan menggunakan alat API 50 CHL *test kit* untuk mengetahui spesies bakteri asam laktat. Hasil pengujian total asam tertitrasi menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri asam laktat pada proses fermentasi mandai nangka tersebut, karena semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka total asam laktat yang terkandung dalam mandai nangka juga semakin tinggi. Hasil identifikasi diperoleh 15 isolat bakteri asam laktat dan setelah dilakukan pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai suhu, pH dan konsentrasi NaCl diketahui bahwa terdapat 5 isolat diantaranya termasuk bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan 10 isolat yang lain belum dapat teridentifikasi. Isolat dengan genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri : katalase negatif, non motil, gram positif, non spora, tidak membentuk gas pada tabung durham, tidak dapat tumbuh pada pH 9,6, dan pada konsentrasi NaCl 18%. Hasil identifikasi dengan API 50 CHL *test kit* pada isolat 1A1 dan 3B2 menguatkan bahwa isolat 1A1 merupakan *Lactobacillus pentosus* dengan tingkat signifikansi 91,6% dan isolat 3B2 merupakan *Lactobacillus pentosus* dengan tingkat signifikansi 97,3%.

SUMMARY

*Lactic acid bacteria is a type of beneficial bacteria because it is a natural and safe food preservative and can inhibit the growth of pathogenic bacteria. Lactic acid bacteria can be obtained from fermented foods, such as jackfruit mandai. Mandai is a traditional food from Kalimantan Selatan, made from jackfruit's dami or cimpedak's dami, fermented with the addition of 15% (w/w) salt and 500 ml water. The fermentation process takes about 7 days. Jackfruit's dami is used as the material to be fermented in this study as an effort to utilize waste from jackfruit which is usually thrown away or sold cheaply. Jackfruit that is used in this study is jackfruit from Gunung Pati. The testing methods of this study include total titratable acidity testing, isolation and purification, and identification of lactic acid bacteria. De Man Ragosa Sharpe Agar medium (MRS agar) and CaCO_3 is medium for isolation and purification of lactic acid bacteria. Methods of identification is using test morfological characters (cell shape, formation of spores, and gram staining), gas production, catalase test, motility test, and the ability to grow at various temperatures, pH and levels of NaCl. In the last stage of identification, the isolates was identified by using API 50 CHL test kit. The identification will reveal the species of lactic acid bacteria. The result of total titratable acidity testing indicate the growth of lactic acid bacteria in jackfruit mandai, because the longer the time of fermentation, the total lactic acid bacteria contained in jackfruit mandai will be larger. Identification results showed that 15 isolates of lactic acid bacteria were isolated from jackfruit mandai. From growth capability test at various temperatures, pH, and NaCl levels, it showed that 5 isolates were including lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* and 10 isolates unidentified. The characteristics of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus*: catalase negative, non motile, rod shaped, gram positive, no gas formed in durham tube, unable to grow at pH 9,6, and NaCl concentration 18%. The identification results by API 50 CHL test kit on isolates 1A1 and 3B2 indicate that isolate 1A1 is identified as *Lactobacillus pentosus* with level of significance 91,6% and isolate 3B2 is identified as *Lactobacillus pentosus* with level of significance 97,3%.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria, karena atas berkat, pertolongan, pendampingan, rahmat, dan kasihNya, Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Mandai Makanan Tradisional Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk) var. Salak, Gunung Pati”. Skripsi ini dibuat dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian, UNIKA Soegijapranata Semarang. Selama penulisan skripsi ini, Penulis menerima pengarahan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Ita Sulistyawati, STP, MSc selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian UNIKA Soegijapranata yang telah memberi kesempatan dan dukungan kepada Penulis dalam penyusunan skripsi.
2. Ibu Ir. Lindayani, MP, PhD selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran, dan dukungan dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Laksmi Hartayanie, MP selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, membimbing dan memberikan saran kepada Penulis selama penyusunan skripsi.
4. Papap, Mamam, Elsy, dan Chris, yang tiada henti memberikan dukungan doa dan semangat bagi Penulis selama penyusunan skripsi.
5. Donny dan Hengky sebagai partner kerja Penulis yang telah menemani, bekerjasama, dan memberi dukungan semangat dari pembuatan proposal, pelaksanaan penelitian di laboratorium, dan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Ko Awei dan Atenk yang telah membantu, menemani, dan membimbing Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
7. Mbak Endah, Mas Soleh, dan Mas Pri yang telah membantu dan membimbing Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium
8. Tabita dan Leo yang telah memberi dukungan semangat dan membantu Penulis selama penelitian di laboratorium dan penyusunan skripsi.

9. Melita, Ketrin, dan Fiera yang telah memberi dukungan semangat kepada Penulis selama penelitian di laboratorium dan penyusunan skripsi.
10. Pak Agus, Mbak Susi, Pak War, dan Pak Lilik yang telah sangat membantu Penulis dalam hal administrasi selama penyusunan skripsi ini.
11. Seluruh Dosen dan Staf Karyawan Fakultas Teknologi Pertanian yang telah membantu dan memberi dukungan semangat kepada Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium maupun dalam penyusunan skripsi.
12. Seluruh teman-teman Fakultas Teknologi Pertanian yang telah meberi saran, kritik, dan membantu Penulis dari awal penelitian sampai penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, berbagai kritik dan saran yang bermanfaat bagi Penulis dari para pembaca dan semua pihak sangat Penulis harapkan. Akhir kata, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan pengetahuan bagi para pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Juni 2012
Penulis,

Elke Novionalita Hartanto

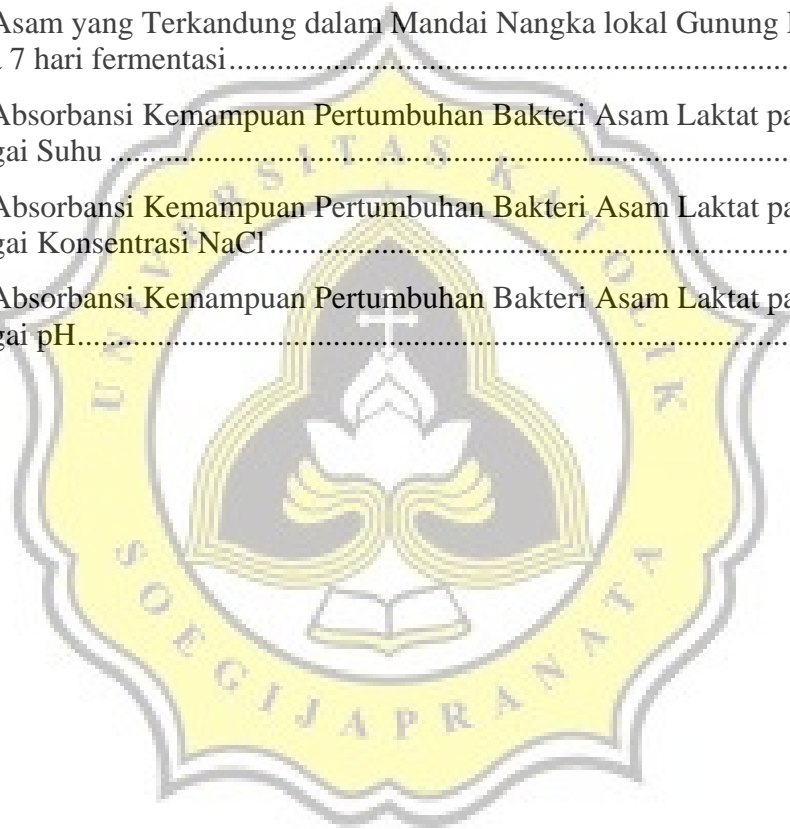
2.2.2.6. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Motilitas.....	14
2.2.2.7. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Produksi Gas.....	14
2.2.2.8. Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai pH, Suhu, dan Kadar NaCl ...	15
2.2.2.8.1. Pertumbuhan Bakteri pada Suhu (10°C, 45°C, dan 50°C).....	15
2.2.2.8.2. Pertumbuhan Bakteri pada pH (4,4 dan 9,6)	15
2.2.2.8.3. Pertumbuhan Bakteri pada Konsentrasi NaCl (6,5% dan 18%).....	15
2.2.2.9. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Menggunakan API 50 CHL.....	16
2.2.2.10. Pembuatan Stok Bakteri Asam Laktat	16
3. HASIL PENELITIAN	17
3.1. Total Asam Laktat yang Terkandung dalam Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati	17
3.2. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati	18
3.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati	19
3.3.1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Gram.....	22
3.3.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Spora.....	22
3.3.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Aktivitas Katalase	23
3.3.4. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Motilitas	24
3.3.5. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Produksi Gas	24
3.3.6. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemampuan Tumbuh pada Suhu 10°C, 45°C, dan 50°C.....	25
3.3.7. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemampuan Tumbuh pada pH 4,4 dan 9,6.....	26
3.3.8. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemampuan Tumbuh pada Konsentrasi NaCl 6,5%, dan 18%.....	26
3.3.9. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan API 50 CHL <i>test kit</i>	27
4. PEMBAHASAN.....	31
4.1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati.....	31
4.1.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat	31
4.1.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat	32
4.1.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan API 50 CHL <i>test kit</i>	34

5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1. Kesimpulan.....	36
5.2. Saran.....	36
6. DAFTAR PUSTAKA.....	37
7. LAMPIRAN.....	41



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Gizi Per 100 Gram Nangka Muda Dan Nangka Masak.....	8
Tabel 2. Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL).....	20
Tabel 3. Penentuan Genus Berdasarkan Kemampuan Tumbuh pada Suhu, Konsentrasi NaCl, dan pH yang berbeda	21
Tabel 4. Hasil Fermentasi Sumber Karbon dengan API 50 CHL <i>test kit</i>	29
Tabel 5. Total Asam yang Terkandung dalam Mandai Nangka lokal Gunung Pati selama 7 hari fermentasi.....	43
Tabel 6. Hasil Absorbansi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu	44
Tabel 7. Hasil Absorbansi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Konsentrasi NaCl.....	45
Tabel 8. Hasil Absorbansi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai pH.....	45



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Proses Fermentasi Asam Laktat oleh Bakteri Asam Laktat.....	3
Gambar 2. Proses Fermentasi Homofermentatif oleh Bakteri Asam Laktat.....	5
Gambar 3. Proses Fermentasi Heterofermentatif oleh Bakteri Asam Laktat.....	6
Gambar 4. Dami Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. salak, Gunung Pati.....	9
Gambar 5. Tahapan Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Mandai Nangka	11
Gambar 6. (a) Bahan Baku Pembuatan Mandai Nangka (Dami Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati), (b) Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati Sebagai Sumber Bakteri Asam Laktat Setelah Fermentasi Selama 7 Hari.....	17
Gambar 7. Total Asam Laktat (%) yang Terkandung dalam Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati Selama Terfermentasi	18
Gambar 8. Koloni Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi yang Membentuk Zona Bening dan Koloni Tunggal pada Isolat 3B2.....	19
Gambar 9. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Menunjukkan isolat 3B2 Termasuk Bakteri Gram Positif dengan Mikroskop pada Perbesaran 10x100	22
Gambar 10. Hasil Pengamatan Pewarnaan Spora Menunjukkan isolat 3B2 Berbentuk Batang dan Tidak Membentuk Spora dengan Mikroskop pada Perbesaran 10x100	23
Gambar 11. Hasil Uji Aktivitas Katalase Bakteri Asam Laktat: (a) Katalase Positif (Isolat 2B2), (b) Katalase Negatif (Isolat 3B2).....	23
Gambar 12. Hasil Uji Motilitas Isolat 3B2 Bersifat Non Motil yang Ditandai Dengan Pertumbuhan Bakteri di Sepanjang Garis Inokulasi	24
Gambar 13. Hasil Uji Produksi Gas: (a) Positif (Isolat 5A1), (b) Negatif (Isolat 3B2).....	24
Gambar 14. Isolat 3B2 Tumbuh Pada Suhu : (a) 10°C, (b) 45°C, dan (c) 50°C	25
Gambar 15. Isolat 3B2 Tumbuh pada pH 4,4 (a) tetapi tidak tumbuh pada pH 9,6 (b)..	26
Gambar 16. Isolat 3B2 Tumbuh pada Konsentrasi NaCl 6,5% (a) tetapi Tidak Tumbuh pada Konsentrasi NaCl 18% (b)	26
Gambar 17. Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan API 50 CHL test kit pada isolat 1A1.....	27

Gambar 18. Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan API 50 CHL <i>test kit</i> pada isolat 1A1	28
Gambar 19. Identifikasi Awal untuk Menentukan Genus Bakteri Asam Laktat	42
Gambar 20. Hasil Pembacaan Identifikasi dengan <i>database API-LAB software</i> pada Isolat1A1	46
Gambar 21. Hasil Pembacaan Identifikasi dengan <i>database API-LAB software</i> pada Isolat 3B2	46



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Media	41
Lampiran 2. Identifikasi Awal Untuk Menentukan Genus Bakteri Asam Laktat	42
Lampiran 3. Total Asam Laktat yang Terkandung dalam Mandai Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) var. Salak, Gunung Pati.....	43
Lampiran 4. Nilai Absorbansi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu, Konsentrasi NaCl, dan pH.....	44
Lampiran 5. Hasil Pembacaan Identifikasi dengan <i>database</i> API-LAB <i>software</i>	46



**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA ON
MANDAI TRADITIONAL FOOD MADE FROM JACKFRUIT (*Artocarpus
heterophyllus* Lamk) VAR. SALAK, GUNUNG PATI**

**Elke Novionalita Hartanto,¹ Lindayani,² Laksmi Hartayanie,²
Student Faculty of Agricultural Technology Soegijapranata Catholic University,¹
Lectures Faculty of Agricultural Technology Soegijapranata Catholic University,²**

ABSTRACT

*Lactic acid bacteria is a type of beneficial bacteria. Lactic acid bacteria can be obtained from fermented foods, such as jackfruit mandai. Mandai is a traditional food from Kalimantan Selatan, made from fermented jackfruit's dami or cimpedak's dami. Jackfruit's dami is used as the material to be fermented in this study as an effort to utilize waste from jackfruit which is usually thrown away or sold cheaply. Jackfruit that is used in this study is jackfruit from Gunung Pati. The methods of this study include total titratable acidity testing, isolation and purification, and identification of lactic acid bacteria. Methods of identification is using test morfological characters (cell shape, formation of spores, and gram staining), gas production, catalase test, motility test, and the ability to growth at various temperatures, pH and levels of NaCl. In the last stage of identification, the isolates were identified by using API 50 CHL test kit. The identification will reveal the species of lactic acid bacteria. Identification results showed that 15 isolates of lactic acid bacteria were isolated from jackfruit mandai. From growth capability test at various temperatures, pH, and NaCl levels, it showed that 5 isolates were including lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* and 10 isolates unidentified. The characteristics of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* are catalase negative, non motile, rod shaped, gram positive, no gas formed in durham tube, unable to grow at pH 9,6, and NaCl concentration 18%. Identification results by API 50 CHL test kit on isolates 1A1 and 3B2 indicate that isolate 1A1 is identified as *Lactobacillus pentosus* with level of significance 91,6% and isolate 3B2 is identified as *Lactobacillus pentosus* with level of significance 97,3%.*

Key word : lactic acid bacteria, jackfruit mandai, isolation, identification

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA MANDAI
MAKANAN TRADISIONAL NANGKA (*Artocarpus heterophyllus* Lamk)
VAR. SALAK, GUNUNG PATI**

**Elke Novionalita Hartanto,¹ Lindayani,² Laksmi Hartayanie,²
Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian UNIKA Soegijapranata,¹
Dosen Fakultas Teknologi Pertanian UNIKA Soegijapranata,²**

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat merupakan jenis bakteri yang menguntungkan. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari makanan hasil fermentasi, seperti mandai nangka. Mandai merupakan makanan tradisional khas Kalimantan Selatan yang terbuat dari dami nangka atau dami cimpedak yang difermentasi. Dami nangka digunakan sebagai bahan utama yang difermentasi pada penelitian ini sebagai upaya pemanfaatan limbah dari buah nangka yang biasanya dibuang atau dijual dengan harga murah. Nangka yang digunakan berasal dari daerah Gunung Pati. Metode pengujian meliputi uji total asam tertitrisasi, isolasi dan pemurnian, serta identifikasi bakteri asam laktat. Metode pengidentifikasian bakteri asam laktat dilakukan dengan uji karakter morfologikal (bentuk sel, pembentukan spora, dan pewarnaan gram), produksi gas, uji katalase, uji motilitas, serta pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai suhu, pH dan konsentrasi NaCl. Pada tahap akhir diidentifikasi dengan menggunakan alat API 50 CHL *test kit* untuk mengetahui spesies bakteri asam laktat. Hasil identifikasi diperoleh 15 isolat bakteri asam laktat dan setelah dilakukan pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai suhu, pH dan konsentrasi NaCl diketahui bahwa 5 isolat diantaranya termasuk bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan 10 isolat yang lain belum dapat diidentifikasi. Isolat dengan genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri: katalase negatif, non motil, gram positif, non spora, tidak membentuk gas pada tabung durham, tidak dapat tumbuh pada pH 9,6, dan pada konsentrasi NaCl 18%. Hasil identifikasi dengan API 50 CHL *test kit* pada isolat 1A1 dan 3B2 menunjukkan bahwa isolat 1A1 merupakan *Lactobacillus pentosus* dengan tingkat signifikansi 91,6% dan isolat 3B2 merupakan *Lactobacillus pentosus* dengan tingkat signifikansi 97,3%.

Kata kunci : bakteri asam laktat, mandai nangka, isolasi, identifikasi