

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI TAPE
TALAS BENTUL (*Colocasia esculenta* (L) Schott) ASAL SUMBA
BARAT DAYA SEBAGAI ANTIKAPANG
TERHADAP *Aspergillus flavus***

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pendidikan



MARTINI ANA AMBU

16151538

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA
KUPANG
2022**

LEMBARAN PERSETUJUAN

Skripsi oleh Martini Ana Ambu dengan judul "Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*", telah diperiksa dan didiskusikan dengan yang bersangkutan, maka kami anggap layak dan setuju yang bersangkutan mempresentasikan dalam ujian skripsi pada tanggal 2022.

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Melissa E.S. Ledo, S.Si, M.Biotech
NIDN: 0829028803

Pembimbing Anggota

Anriliana Ballo, S.Si., M.Si
NIDN : 0804048302



Ketua Program Studi Pendidikan Biologi

Fransina Th. Nomleni, S.Pd.M.Pd
NIDN: 0821108401

LEMBARAN PENGESAHAN

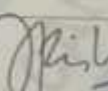
JUDUL : Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*

NAMA : Martini Ana Ambu

NIM : 16151538

PROGDI : Pendidikan Biologi

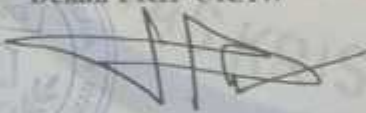
DEWAN PENGUJI

NAMA	STATUS	TANDA TANGAN
Alan Charis Sabuna, S.Si, M.S	Penguji Utama	
Hartini R.L Solle, S.Si, M.Sc	Penguji Anggota I	
Melissa Erlyn Stephanie Ledo, S.Si, M.Biotech	Penguji Anggota II/Pembimbing Utama	
Apriliana Ballo, S.Si, M.Si	Penguji Anggota III/Pembimbing Anggota	

MENGETAHUI

Dekan FKIP UKAW

Ketua Program Studi
Pendidikan Biologi


Dr. Andreas J. F. Lumba, M.Pd
NIDN: 0806086801


Fransina Th. Nomleni, S.Pd, M.Pd
NIDN: 0821108401

Tanggal Ujian : 19 Januari 2022

Tanggal Yudisium : 5 Februari 2022

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Martini Ana Ambu

NIM : 16151538

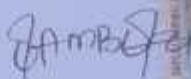
Progdi : Pendidikan Biologi

Alamat: Oesapa

Dengan ini saya menyatakan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa dalam menulis skripsi yang berjudul **Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*** saya tidak melakukan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain, kecuali secara tertulis diakui dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Pustaka. Apabila dalam skripsi ternyata ditemui duplikasi, jiplakan (plagiat) dari Skripsi/Tesis/Desertasi orang lain/institusi lain, maka saya bersedia menerima sanksi untuk dibatalkan kelulusan saya dan saya bersedia melepaskan Sarjana Pendidikan Biologi dengan penuh rasa tanggung jawab.

Kupang, 19 Januari 2022

Yang Membuat Pernyataan



Martini Ana Ambu
NIM:16151538

BIODATA PENULIS



Penulis bernama Martini Ana Ambu, penulis dilahirkan pada tanggal 8 maret 1999 di Lairuru, Kecamatan Umalulu, Kabupaten Sumba Timur, Propinsi Nusa Tenggara Timur dari pasangan bapak Umbu Ndilu Kamangi dan ibu Nuana Ana Awang. Penulis merupakan anak keempat dari 9 bersaudara. Tahun 2004 penulis diterima di SD Inpres Lairuru dan tamat pada tahun 2010. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Rindi Umalulu dan tamat pada tahun 2013. Pada tahun yang sama juga penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 1 Rindi Umalulu dan tamat pada tahun 2016. Tahun 2016 penulis diterima sebagai mahasiswa strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Kristen Artha Wacana Kupang. Penulis berhasil menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) dengan baik pada Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Artha Wacana Kupang pada tahun 2022.

MOTTO

Matius 6:33

Tetapi carilah dahulu kerajaan Allah
dan kebenarannya maka semuanya
itu akan ditambahkan kepadamu

PERSEMBAHAN

Tulisan ini khusus ku persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kekuatan dan perlindungan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapa Umbu Ndilu Kamangi dan mama Nuana Ana Awang dengan doa dan penuh cinta mencurahkan seluruh jiwa untuk keberhasilan penulis.
3. Seluruh keluarga tercinta terkhususnya bapa Ama Come dan mama Lusiana Come yang selalu mendoakan dalam penulisan skripsi ini.
4. Almamaterku, Universitas Kristen Artha Wacana Kupang yang telah menjadi naungan bagi penulis dalam menuntut ilmu.

ABSTRAK

Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*

Ambu, M.A) *

Ledo, M.E.S) **

Ballo, A.)**

Bakteri asam laktat memiliki kontribusi besar dalam dunia pangan. Bakteri asam laktat selain biasanya digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi. Organisme ini juga sangat penting dalam industri fermentasi makanan karena memproduksi peptida dan protein (bakteriosin) yang menghambat pertumbuhan organisme patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) sebagai antikapang terhadap *Aspergillus flavus*. Metode yang digunakan adalah eksperimen. Data karakteristik morfologi secara makroskopis dan mikroskopik (pewarnaan gram dan uji katalase) dianalisis secara kualitatif sedangkan data uji aktivitas antikapang dari jamur *Aspergillus flavus* berupa hasil perhitungan diameter pertumbuhan koloni jamur di analisis secara kuantitatif dan dideskripsikan dalam bentuk gambar dan tabel. Berdasarkan data penelitian ditemukan bahwa tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) ditemukan 4 total isolat dengan kode C1,C2,C3 dan C4 dari hasil isolasi. Dari hasil uji pewarnaan gram dan uji katalase isolat C1 bergram positif dengan katalase negatif, isolat C2 bergram negatif dengan katalase positif, isolat C3 bergram positif dengan katalase negatif, dan isolat C4 bergram positif dengan katalase negatif. Pembentukan aktivitas antikapang diujikan pada kode isolat C3 dengan hasil pertumbuhan jamur sangat lambat dari hari pertama sampai hari kedua 0,07 mm dan hari kedua sampai hari ketiga hanya 0,07 mm.

Kata Kunci :Bakteri Asam Laktat, (*Colocasia esculenta* (L) Schott), Jamur *Aspergillus flavus*.

Keterangan: * = Peneliti

** = Pembimbing

ABSTRACT

Isolation of Lactic Acid Bacteria from Bentul Taro Tape (*Colocasia esculenta* (L) Schott) from Southwest Sumba as Antifungal Against *Aspergillus flavus*

Ambu, M.A) *

Ledo, M.E.S) **

Ballo, A.)**

Lactic acid bacteria have a major contribution in the food world. Lactic acid bacteria are not only used as functional food but are also often used as natural preservatives in fermented food products. These organisms are also very important in the food fermentation industry because they produce peptides and proteins (bacteriocins) that inhibit the growth of pathogenic organisms. The aim of this study was to isolate lactic acid bacteria from tapered taro (*Colocasia esculenta* (L) Schott) as antifungal against *Aspergillus flavus*. The method used is experimental. Data on macroscopic and microscopic morphological characteristics (gram staining and catalase test) were analyzed qualitatively, while data on the anti-fungal activity of the fungus *Aspergillus flavus* in the form of the calculation of the diameter of fungal colony growth was analyzed quantitatively and described in the form of figures and tables. Based on the research data, it was found that the tapered taro (*Colocasia esculenta* (L) Schott) produced 4 total isolates with codes C1, C2, C3, and C4 from the isolation results. From the results of the gram staining test and catalase test, C1 isolates were gram positive with catalase negative, C2 isolates were gram negative with catalase positive, C3 isolates were gram positive with catalase negative, and C4 isolates were gram positive with negative catalase. The formation of antifungal activity was tested on isolate code C3 with very slow fungal growth from the first day to the second day by 0.07 mm and the second day to the third day only 0.07 mm.

Keywords: Lactic Acid Bacteria, (*Colocasia esculenta* (L) Schott), *Aspergillus flavus* fungus.

Description: * = Researcher

** = Mentor

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan berkat-Nya kepada penulis sejak penelitian sampai dengan penyelesaian skripsi yang berjudul **“Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*”**. Tujuan penulisan skripsi ini untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar sarjana pendidikan (S.Pd) bagi mahasiswa program S-1 di Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Kristen Artha Wacana Kupang.

Skripsi ini merupakan wujud dari aplikasi teoritis dalam memahami dan mendalami secara langsung ilmu pengetahuan yang diperoleh pada saat mengikuti kuliah. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri asam laktat dari tape talas bentul asal sumba barat daya sebagai antikapang terhadap *Aspergillus flavus*. Selama penelitian dan penulisan skripsi ini, penulis tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari banyak pihak baik secara material maupun secara moril. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari para pembaca yang bersifat membangun dapat berkontribusi dalam skripsi ini. Atas bantuan dan kerja sama yang baik dari semua pihak yang membantu penulis baik secara materi, moral dan dukungan doanya penulis mengucapkan limpah terimakasih. Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat buat kita semua.

Kupang, 19 Januari 2022

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa keberhasilan dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung berupa material maupun spiritual, oleh karena itu dengan rasa hormat teriring doa dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa sebagai sumber segala berkat yang telah menganugerahkan hikmat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi.
2. Bapak Dr. Ir. Ayub U. I. Meko, M.Si, Rektor Universitas Kristen Artha Wacana (UKAW) Kupang.
3. Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Dr. Andreas J.F. Lumba, S.Pd., M.Pd dan Para Pembantu Dekan serta semua staf Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan yang telah membantu dalam hal akademis maupun administratif.
4. Ibu Fransina Th. Nomleni, S.Pd, M.Pd, Ketua Program Studi Pendidikan Biologi dan staf dosen Program Studi Pendidikan Biologi yang telah memberikan segudang ilmu pengetahuan dan keterampilan bagi penulis selama masa perkuliahan.
5. Ibu Mellissa Erlyn Stephanie Ledo, S.Si, M.Biotech, Selaku Pembimbing I sekaligus Dosen Penasihat Akademik yang memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama masa perkuliahan.

6. Ibu Apriliana Ballo, S.Si., M.Si, Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbing penulis, sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Bapak Alan Ch. Sabuna, S.Si, MS, Penguji I dan ibu Hartini R.L Solle, S.Si, M.Sc, penguji II yang telah memberikan arahan, masukan dan bimbingan kepada penulis.
8. Orang tua tersayang Bapak Umbu Ndilu Kamangi dan Ibu tercinta Nuana Ana Awang yang telah membesarkan, mendidik dan mendoakan penulis serta Saudara-saudariku tersayang Kakak Manny, Kakak Bobi, Jerry, Risky, Joice, Marvel, Vikky dan Rambu Ana yang selalu mendukung penulis dengan sabar dan setia menanti keberhasilan penulis.
9. Untuk sahabatku tercinta Come, Ida, Ance, Adel, Ayu, Ete, Ory, Intan, Novi, Villa, Iam Bayang, Ninda, Ian Bria, Mony, Yolan, Uken, Willy, Vester, Oty, ince djami, yang selalu ada dan saling memberikan motivasi.
10. Alumni SDI Lairuru, alumni SMPN 1 Rindi Umalulu, alumni SMAN 1 Rindi Umalulu, dan Laboratorium Pendidikan Biologi UKAW Kupang.
11. Almamater Tercinta Universitas Kristen Artha Wacana Kupang.

Hanya doa dan harapan serta terima kasih yang sebesar-besarnya dari penulis atas segala dukungan dari semua pihak yang telah diberikan. Semoga kebaikan yang telah diberikan kepada penulis kiranya mendapat Berkah dan Perlindungan dari Tuhan Yang Maha Esa.

Kupang, 19 Januari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
BIODATA PENULIS.....	v
MOTTO	vi
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
UCAPAN TERIMA KASIH	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	7
A. Talas Bentul (<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Scott)	7
B. Tape	10
C. Bakteri Asam Laktat.....	12
D. Jamur <i>Aspergillus flavus</i>	19
E. Hipotesis	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat	22
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	22
C. Metode Penelitian.....	23
D. Prosedur Penelitian.....	23

E. Analisis Data	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
A. Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (<i>Colocasia esculenta</i> (L) Scott).....	27
B. Uji Mikroskopik Dengan Pengecetan Gram.....	32
C. Uji Katalase.	34
D. Pengamatan Uji Aktivitas BAL Dalam Menghambat Pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i> Sampai Hari Ke-3	36
BAB V PENUTUP	40
1. Kesimpulan.....	40
2. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Kandungan Gizi Dalam 100 G Talas	9
Tabel 2.2 Peranan Mikroba Dalam Ragi Tape.....	11
Tabel 4.1 Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat	31
Tabel 4.2 Uji Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram.....	33
Tabel 4.3 Uji Katalase.....	35
Tabel 4.4 Pengamatan Uji Aktivitas Antikapang.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Talas Bentul (<i>Colocasia esculenta</i> (L) Scott)	9
Gambar 2.2 <i>Aspergillus flavus</i>	10
Gambar 4.1 Umbi Dan Tape Talas Bentul.....	28
Gambar 4.2 Hasil Isolasi Dari Tape Talas Bentul	33
Gambar 4.3 Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat.....	35
Gambar 4.4 Uji Katalase Bakteri Asam Laktat.....	37
Gambar 4.5 Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antikapang.	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Mohon Ijin Penelitian

Lampiran 2 Surat Keterangan Selesai Penelitian

Lampiran 3 Surat Keterangan Bebas Materi

Lampiran 4 Tahap Pembuatan Tape Talas Bentul

Lampiran 5 Tahap Sterilisasi Dan Pembuatan Media MRSA

Lampiran 6 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Lampiran 7 Tahap Purifikasi Bakteri Asam Laktat

Lampiran 8 Tahap Pewarnaan Gram

Lampiran 9 Tahap Uji Antikapang

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara Agraris, sebagian besar kehidupan masyarakat ditopang oleh hasil-hasil pertanian. Hasil pertanian ini diantaranya adalah talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott). Tanaman ini merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang berasal dari Asia Tenggara, kemudian menyebar ke Cina, Jepang, dan beberapa pulau disamudra pasifik oleh Penduduk yang bermigrasi (Amaruddin, 2013). Di Indonesia, talas tersebar di seluruh kepulauan Indonesia mulai dari tepi pantai hingga pegunungan yang memiliki ketinggian 0 m hingga 2740 m dibawah permukaan laut, baik yang tumbuh secara liar atau dibudidayakan (Wahyudi, 2010).

Salah satu daerah di Indonesia yang membudidayakan tanaman talas bentul adalah di daerah NTT terlebih khususnya di Kabupaten Sumba Barat Daya. Tanaman talas bentul dapat dikonsumsi umbinya sedangkan batang dan daun talas bentul biasanya dijadikan pakan ternak. Talas bentul dapat diolah menjadi berbagai macam produk seperti keripik, kolak, dan tepung.

Talas merupakan tanaman yang potensial untuk dikembangkan sebagai bahan pangan alternatif karena mengandung sumber mineral penting bagi tubuh seperti kalsium, magnesium, besi, seng, dan mineral lainnya. Talas juga sangat kaya akan kandungan karbohidrat, protein, vitamin C, thiamin, riboflavin dan niasin. Salah satu kendala dalam pemanfaatan talas sebagai bahan pangan yaitu adanya rasa gatal yang disebabkan kandungan senyawa

oksalat, selain itu konsumsi makanan yang mengandung oksalat tinggi dapat menyebabkan penurunan absorpsi kalsium dan dapat menyebabkan terbentuknya batu ginjal (Maulina dkk. 2012).

Salah satu pangan fermentasi yang cukup populer adalah tape. Tape merupakan makanan selingan yang cukup populer di Indonesia. Pada dasarnya ada dua jenis tape, yaitu tape ketan dan tape singkong. Tape memiliki rasa manis dan sedikit mengandung alkohol, memiliki aroma yang menyenangkan, bertekstur lunak dan berair. Sebagai produk makanan, tape cepat rusak karena adanya fermentasi lanjut setelah kondisi optimum fermentasi tercapai, sehingga harus segera dikonsumsi.

Mikroba yang berperan dalam pembuatan tape yaitu jenis kapang, khamir serta bakteri seperti *Pediococcus sp.*; dan *Bacillus sp.*; ketiga kelompok mikroorganisme tersebut bekerja sama dalam menghasilkan tape. Mikroba jenis khamir, kapang serta bakteri akan merubah sebagian gula-gula sederhana menjadi alkohol. Inilah yang menyebabkan aroma alkoholis pada tape. Semakin lama tape tersebut dibuat, maka aroma alkoholnya semakin kuat. Proses pembuatan tape harus dilakukan dengan baik untuk menghasilkan kualitas warna, rasa, tekstur serta aroma khas tape yang baik.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. BAL selain biasanya digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi.

BAL banyak ditemukan pada berbagai bahan hasil pertanian, selain pada produk fermentasi susu. Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-

buah dan sayuran seperti asinan adalah potensi sebagai sumber Bakteri asam laktat (Ulinuha, 2018). Dari hasil penelitian (Koriasih dkk. 2019) dalam penelitiannya tentang Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* menyatakan bahwa, hasil uji menunjukkan BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Penghambatan pada BAL terjadi karena adanya asam organik dan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh BAL serta persaingan nutrisi pada media. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dalie dkk. (2010) dalam Hidayatulloh dkk. (2019), tiga mekanisme antikapang dari BAL yaitu menghasilkan asam organik, persaingan nutrisi dan produksi senyawa antagonis. Menurut Jannah (2005) kompetitif antara *A. flavus* dan BAL dalam mempergunakan substrat yang terbatas pada pH yang relatif rendah dapat menyebabkan penurunan populasi *A. flavus*.

BAL mampu menghasilkan antibakteri berupa bakteriosin, karbondioksida, hidrogen peroksida, metabolit primer, asam organik, dimana asam laktat merupakan hasil metabolit utama. Sujaya dkk. (2008) menjelaskan bahwa BAL menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya. Menurut Dalie dkk. (2010) dalam Hidayatulloh dkk. (2019) penurunan pH dapat menghambat mikroorganisme lain. Bentuk asam yang tidak terdisosiasi dan lebih hidrofobik berdifusi di atas membran sel dan berdisosiasi di dalam sel, melepaskan ion H^+ yang mengasamkan sitoplasma dan menghentikan aktivitas metabolisme dari sel kapang. Asam organik yang dihasilkan BAL diantaranya asam laktat, asam asetat, asam propionat dan asam fenilaktat (PLA) (Koriasih dkk. 2019).

Bakteriosin merupakan senyawa protein yang berasal dari bakteri dan menunjukkan aktivitas bakterisidal terhadap spesies yang berhubungan dekat dengan spesies penghasil bakteriosin dan atau bakteri lain yang sejenis (Susanto, 2020). Bakteriosin umumnya dihasilkan oleh BAL (Galvez dkk. 2007) dalam Susanto (2020) Bakteriosin sangat potensial untuk dikembangkan sebagai zat pengawet makanan karena sifat yang tidak berbahaya bagi kesehatan manusia, dan dapat membunuh bakteri pembusuk serta patogen terhadap bahan pangan.

Bakteriosin sangat efektif mencegah beberapa bakteri Gram positif, bakteri penghasil spora (*spore forming bacteria*) dan *food borne pathogens*, seperti *L. monocytogenes*. Selain itu, bakteriosin juga mampu menghambat beberapa mikroorganisme lain seperti *Bacillus cereus*, *B. Stearothermophilus*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. faecalis*, *S.pyogenes*, *Listeria denitrificans*, dan *Escherichia coli* (Ogunbanwo dkk. 2003 : Mahapetra dkk. 2005) dikutip dalam Susanto (2020).

Pangan dapat menjadi beracun karena telah terkontaminasi oleh mikroba patogen. Kontaminasi pangan oleh bakteri, kapang dan khamir dapat mengubah karakter organoleptik, mengakibatkan perubahan nutrisi, bahkan berbahaya jika mikroba tersebut dapat menghasilkan toksin. Contohnya yaitu *Aspergillus flavus* yang dapat menghasilkan aflatoxin (BPOM, 2008). *Aspergillus flavus* adalah jamur pantogen yang sering ditemui pada bahan-bahan pakan seperti pada komoditas kacang-kacangan, buah-buahan dan sayur-sayuran. Berbagai teknik telah diterapkan untuk menghambat pertumbuhan kapang seperti penggunaan pengawet kimia: sorbates, propionate dan

natamisin. Penggunaan bahan kimia menimbulkan efek negatif pada rasa, aroma dan kesehatan. Oleh karena itu, lebih baik untuk mengembangkan bahan pengawet alami untuk mengganti pengawet kimia (Cheong, dkk. 2014).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang **“Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap *Aspergillus flavus*“**

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah Isolat BAL dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya memiliki kemampuan sebagai antikapang terhadap *Aspergillus flavus* ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat BAL dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Asal Sumba Barat Daya sebagai antikapang terhadap *Aspergillus flavus*.

D. Manfaat penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Manfaat Akademik

Memberi informasi ilmiah bagi Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi tentang manfaat tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) sebagai sumber isolat BAL yang memiliki kemampuan antikapang terhadap *Aspergillus flavus* dan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi SI. Penelitian ini menambah pengembangan terkait mata kuliah Mikrobiologi

2. Manfaat Praktis

Sebagai informasi kepada masyarakat untuk menambah pengetahuan tentang potensi talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) asal Sumba Barat Daya sebagai sumber Isolat BAL yang menjadi antikapang terhadap *Aspergillus flavus*.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Talas Bentul

Talas merupakan tanaman tahunan. Talas dapat tumbuh diberbagai macam daerah baik itu tumbuh secara liar maupun dibudidayakan. Tanaman talas dapat dijumpai hampir di seluruh wilayah Indonesia. Salah satu wilayah Indonesia yang banyak dijumpai tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L) Schott) adalah Sumba Barat Daya. Tanaman ini banyak ditanam di daerah pedesaan biasanya digunakan sebagai bahan pangan pengganti beras, makanan selingan dan bahkan hanya dibiarkan tumbuh begitu saja (Sriyono, 2012).

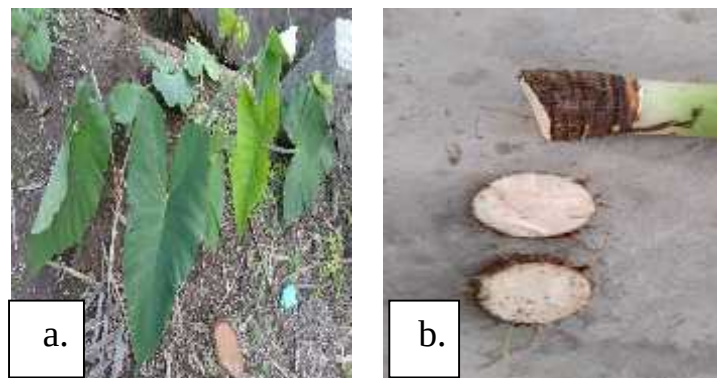
Talas (*Colocasia esculenta* (L) Schott) merupakan salah satu tanaman pangan yang berpotensi sebagai sumber karbohidrat dalam diversifikasi pangan. Sekitar 10% penduduk dunia mengonsumsi talas sebagai pangan. Jenis tanaman ini tidak menuntut syarat tumbuh yang khusus dan merupakan sumber pangan yang penting karena umbinya memiliki nilai gizi yang cukup baik (Sulistiyowati dkk. 2014). Umbi talas merupakan bahan pangan yang rendah lemak, bebas gluten, dan mudah dicerna karena mengandung serat yang cukup tinggi untuk memperlancar kerja pencernaan (Hassan, 2014).

Talas memiliki manfaat bagi kesehatan diantaranya dapat menyehatkan jantung. Membantu menstabilkan dan menurunkan tekanan darah, meningkatkan sistem imun tubuh, mengatasi kelelahan dan dapat berfungsi sebagai anti-aging. Selain itu umbi talas juga dapat menyeimbangkan pH didalam tubuh (Annisa, 2015).

Tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L) Schott) adalah tumbuhan dengan tangkai daunnya semua berbentuk silinder. Umbi talas kebanyakan coklat muda dandaun berbentuk seperti jantung memanjang dengan sifat tahan air (Wijaya dkk. 2014). Talas diklasifikasikan sebagai tumbuhan berbiji (*Spermatophyta*) dengan biji tertutup (*Angiospermae*) dan berkeping satu (Koswara, 2013).

Klasifikasi *Colocasia esculenta* (Anonim., 2020)

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Subkelas : Arecidae
Ordo : Arales
Famili : Araceae
Genus : *Colocasia*
Spesies : *Colocasia esculenta* var. *Antiquorum* (L.) Schott



Gambar 2.1 Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) (a.) daun dan batang. (b.) umbi (Sumber : Dokumentasi Peneliti., 2020)

Talas dari mulai daun dan umbinya mempunyai kandungan gizi yang cukup baik. Daunnya mengandung protein 23% berat kering serta kaya akan unsur hara Ca, P, Fe, Vitamin A, riboflavin dan niasin. Daun dan batang talas sering dimanfaatkan sebagai sayuran.

Umbi talas berpotensi sebagai sumber karbohidrat dan protein yang cukup tinggi. Umbi talas juga mengandung lemak, vitamin (A, B1 dan sedikit vitamin C), dan mineral dalam jumlah sedikit. Komposisi kimia talas tergantung pada varietas, iklim, kesuburan tanah, umur panen, dan lain – lain.

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Talas dalam 100 g Talas

Kandungan gizi	Talas Mentah	Talas Rebus	Talas Kukus
Energi (kal)	98.0	-	120,0
Protein (g)	1,90	1,17	1,50
Lemak (g)	0,20	0,31	0,30
Karbohidrat (g)	23,70	29,31	28,20
Kalsium (mg)	28,00	-	31,00
Fosfor (mg)	61,00	-	63,00
Besi (mg)	1,00	-	0,70
Vitamin A (mg)	3,00	-	-
Vitamin C (mg)	4,00	-	2,00
Vitamin B1 (mg)	0,13	-	0,05
Air (g)	73,00	61,00	69,20
Bagian yang dimakan	85,00	-	85,00

Sumber : Arentyba (2011) dalam Misnani (2011)

Menurut Danimihardja (1978) dalam Richana (2012), komposisi kimia bagian – bagian umbi talas tidak sama. Kandungan pati pada bagian ujung umbi lebih rendah dibandingkan bagian pangkalnya, sedangkan kandungan non pati lebih banyak terdapat pada kulitnya. Kandungan protein pada tanaman talas terutama banyak terdapat di bagian daunnya. Umbi talas mengandung Ca, P, Fe, yang jumlahnya masih lebih besar dibandingkan umbi – umbian lainnya

seperti umbi kayu dan ubi jalar. Umbi talas mengandung suatu senyawa yang menyebabkan rasa gatal yaitu kalsium oksalat. Kalsium oksalat banyak terdapat di dalam cairan umbi, rasa gatal bukan disebabkan oleh reaksi kimia pada kulit yang peka melainkan karena fenomena mekanis. Rasa gatal yang merangsang rongga mulut dan kulit disebabkan oleh adanya kristal kecil berbentuk jarum halus yang tersusun dari kalsium oksalat yang disebut rhapid. Rhapid tersebut terkandung dalam kapsul yang dikelilingi lendir (Richana, 2012).

B. Tape

Tape merupakan bentuk hasil olahan tradisional yang sudah tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Tape dapat terbuat dari umbi-umbian yang difermentasi dan akan menghasilkan etanol, asam laktat, dan hidrogen. Beberapa komponen lain juga dapat dihasilkan dari fermentasi seperti asam butirat dan aseton.

Tapai umumnya mempunyai tekstur yang lunak, berair, bertekstur lengket dan lembut (Santosa, 2010). Hal ini disebabkan karena dalam proses fermentasi terjadi penguraian gula sederhana menjadi alkohol yang disertai dengan pelepasan kandungan air, sehingga air dalam bahan makanan semakin meningkat dan menyebabkan tekstur dari tapai tersebut menjadi sangat lunak (Astawan, 2004).

Pembuatan tape melibatkan banyak mikroorganisme yang terdapat di dalam ragi tape. Ragi tape adalah istilah umum untuk starter yang digunakan untuk membuat tape, baik tape singkong maupun tape beras ketan. Umumnya

ragi tape yang digunakan di Indonesia mengandung lebih dari satu jenis mikroorganisme, baik khamir, kapang, maupun bakteri yang berfungsi sebagai starter fermentasi dan dapat meningkatkan kandungan nutrisi produk fermentasi.

Mikroorganisme yang terdapat dalam ragi tape secara umum meliputi kapang, khamir serta bakteri seperti *Pediococcus sp.*; dan *Bacillus sp.*; ketiga kelompok mikroorganisme tersebut bekerja sama dalam menghasilkan tape. Ragi yang mengandung mikroflora seperti kapang, khamir dan bakteri dapat berfungsi sebagai starter fermentasi dan dapat meningkatkan kandungan nutrisi produk fermentasi (Milmi, 2008).

Tabel 2.2 Peranan Mikroba Dalam Ragi Tape

Jenis Mikroba Fungsi	Jenis Mikroba Fungsi
Kapang Amilolitik - Mucor - Rhizopus - Amilomyces	- Penghasil sakarida dan cairan - Penghasil sakarida dan cairan - Penghasil sedikit sakarida dan cairan
Khamir Amilolitik - Endomycopsis	- Penghasil sakarida dan bau yang lemah
Khamir Nonamilolitik - Saccharomyces - Hansenula - Endomycopsis - Candida	- Penghasil alkohol - Penghasil aroma yang menyegarkan - Penghasil bau yang khas - Penghasil bau yang khas
Bakteri Asam laktat - Pediococcus	- Penghasil asam laktat
Bakteri Amilolitik - Bacillus	- Penghasil sakarida

Sumber : Saono, (1982) dalam ninsix, (2013)

Fermentasi tradisional umumnya berlangsung secara spontan (tanpa inokulum), sehingga terdapat berbagai mikrobia yang tumbuh sesuai dengan perubahan. Mikrobia yang tumbuh dapat menyebabkan perubahan karakteristik

dari produk yang dihasilkan. Proses fermentasi pada pati secara tradisional mampu memberikan perubahan karakteristik seperti naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi dan kemudahan melarut. Fermentasi merupakan teknik pengolahan pangan sebagai hasil metabolisme mikroorganisme dalam keadaan aerob maupun anaerob. Jenis mikroorganisme tertentu dapat digunakan untuk melakukan perombakan secara kimia atau fisik sehingga memberi bentuk, tekstur dan aroma pada hasil akhirnya (Muchtadi dan Sugiyono, 2013). Salah satu upaya untuk meningkatkan kandungan gizi umbi talas bentul dapat dilakukan dengan teknik fermentasi menggunakan mikroorganisme lokal yang terdapat dalam ragi tape.

C. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. BAL selain biasanya digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi. Penggunaan bakteri asam laktat sebagai pengawet alami dengan metode biopreservatif telah banyak dikembangkan dengan menggunakan bakteri asam laktat secara langsung atau menggunakan metabolitnya sebagai agen antimikroba (Ibrahim dkk. 2015)

BAL termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena tidak menghasilkan toksin, atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Kusmiati dan Malik, 2002). BAL

banyak digunakan untuk menghasilkan makanan fermentasi. Organisme ini juga sangat penting dalam industri fermentasi makanan karena mereka memproduksi peptida dan protein (bakteriosin) yang menghambat pertumbuhan organisme patogen (Glazer, 2007).

BAL telah lama digunakan manusia untuk produksi makanan dan pengawetan makanan seperti yogurt, sawi asin, keju dan lainnya. Beberapa penelitian menyebutkan keberadaan bakteri asam laktat di tempe dan tape (Bettache dkk. 2012 dalam Sulistiani, 2020).

BAL merupakan kelompok bakteri yang termasuk dalam filum Firmicute. Bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella* (Jay, 1992). Kelompok bakteri ini termasuk bakteri Gram positif, tidak berspora, tidak berpigmen mesofil, serta berbentuk kokus dan batang. Bakteri ini dapat hidup pada temperatur antara 5-50 °C dan bersifat katalase negatif (Rinihendriani, 2009).

Distribusi BAL di alam sangat tergantung pada ketersediaan nutrisi terutama laktosa, karena kelompok bakteri ini membutuhkan nutrisi yang sangat banyak untuk melangsungkan hidupnya. Secara alami bakteri asam laktat dapat dijumpai pada susu dan tempat-tempat dimana susu diproses. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Ini juga yang menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya (Ernawati, 2010).

BAL merupakan bakteri yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan dari 3 sampai 4,5 sehingga pembentukan bakteri lain seperti bakteri pembusuk akan terhambat. Pada umumnya mikroorganisme akan tumbuh pada kisaran pH 6–8 (Rostini, 2007). Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif tidak berspora, berbentuk bulat atau batang. Secara ekologis kelompok bakteri ini sangat bervariasi dan anggota spesiesnya dapat mendominasi bermacam-macam makanan, minuman atau habitat yang lain seperti tanaman, jerami, rongga mulut dan perut hewan (Suriani dkk., 2010).

BAL mempunyai peran esensial hampir dalam semua proses fermentasi, Peran umum bakteri ini dalam industri makanan adalah untuk pengasam bahan mentah dengan memproduksi sebagian besar asam laktat (bakteri homofermentasi) atau asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂ (Nur, 2005). Produk makanan probiotik yang telah lama dikenal antara lain produk susu fermentasi oleh bakteri asam laktat (*Lactobacilli* dan *Bifidobacterium*) seperti yogurt, yakult, susu *Acidofilus* dan lain-lain.

Identifikasi sangat penting mengingat produk lanjut yakni yogurt dan makanan probiotik lain yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Mikroorganisme probiotik yang digunakan secara oral lebih tahan terhadap enzim dalam mulut (amilase, lisozim) terhadap enzim pepsin atau lipase dan pH rendah (konsentrasi HCL tinggi) pada lambung, konsentrasi asam empedu, getah pankreas dan mucus pada usus halus. Untuk itu perlu kriteria seleksi strain mikroba. Beberapa studi pendahuluan diketahui sifat-sifat umum BAL. Sifat-sifat umum BAL itu antara lain bentuk batang atau bulat (coccus), sifat gram

positif, katalase negatif, endospora negatif, motilitas negatif dan mampu menghasilkan asam laktat (Ernawati, 2010).

Untuk pertumbuhannya bakteri memerlukan suhu sebagai faktor perkembangbiakannya, atas dasar suhu yang diperlukan tumbuh, bakteri dapat terbagi dalam beberapa golongan yaitu :

1. Psikofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara (0-20⁰C) dengan suhu optimal 25⁰C. misalnya golongan mikroba laut.
2. Mesofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu (25⁰C – 45⁰C) dengan suhu optimal 37⁰C misalnya golongan bakteri patogen yang menyebabkan infeksi pada tubuh manusia. Namun terdapat sebagian bakteri yang termaksud golongan ini bersifat menguntungkan bagi manusia.
3. Termofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu (50⁰ – 60⁰) C Suhu rendah yang dimana bakteri dapat tumbuh disebut minimum growth temperature. Sedangkan suhu tertinggi dimana bakteri dapat tumbuh dengan baik disebut *maximum growth temperature*. Suhu di mana bakteri dapat tumbuh dengan sempurna di antara kedua suhu tersebut disebut suhu optimum (Ernawati, 2010).

Suhu menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Peningkatan temperatur sebesar 10⁰C dapat meningkatkan aktifitas sebesar dua kali lipat. Pada temperatur yang sangat tinggi akan terjadi denaturasi protein yang tidak dapat balik, sedangkan pada temperatur yang sangat rendah aktivitas enzim akan berhenti. Pada temperature pertumbuhan optimal akan

terjadi kecepatan pertumbuhan optimal dan dihasilkan jumlah sel yang maksimal.

Dua kelompok kecil mikroorganisme dikenal dari kelompok ini yaitu organisme-organisme yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Jenis homofermentatif yang terpenting menghasilkan hanya asam laktat dari mikroorganisme gula, sedangkan jenis-jenis heterofermentatif disamping menghasilkan asam laktat, bakteri ini juga menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam-asam volatile lainnya, alkohol dan ester. Beberapa jenis yang penting dari bakteri asam laktat adalah sebagai berikut:

- a. *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*. Semuanya ini adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat (coccus) yang terdapat sebagai rantai dan semuanya mempunyai nilai ekonomis penting dalam industri susu. Bakteri ini termasuk dalam family streptococcaceae, yaitu spesies dari genus *Streptococcus*, *leuococcus* dan *Aerococcus*. *Streptococcus* merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara berpasangan atau membentuk rantai pendek dan panjang tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat homofermentatif dan beberapa jenis dapat memproduksi asam laktat secara cepat pada kondisi anaerobik, oleh karena itu bakteri ini sering digunakan dalam pengawet makanan, terutama untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembentuk racun. Kebanyakan bakteri ini bersifat proteolitik dan lipolitik. Ciri-ciri lainnya bersifat fakultatif anaerob,

katalase negatif dan mampu memfermentasikan glukosa (Kusumawati, 2006).

- b. *Pediococcus cerevisae*. Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat (coccus), khususnya terdapat berpasangan atau berempat (tetrads). Walaupun jenis ini tercatat sebagai perusak bir dan anggur, bakteri ini berperan penting dalam fermentasi daging dan sayuran.
- c. *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*. Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat yang terdapat secara berpasangan atau rantai pendek. Bakteri-bakteri ini berperan dalam perusakan larutan gula dengan produksi pertumbuhan dekstran berlendir. Walaupun demikian, bakteri - bakteri ini merupakan jenis yang penting dalam permulaan fermentasi sayuran dan juga ditemukan dalam sari buah, anggur dan bahan pangan lainnya.
- d. *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*. Organisme-organisme ini adalah bakteri berbentuk batang, termasuk bakteri Gram positif dan sering membentuk pasangan dari rantai sel-selnya. Jenis ini umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dari pada jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus* dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Bakteri-bakteri ini penting sekali dalam fermentasi susu dan sayuran. Bakteri *Lactobacillus* memiliki habitat asli (sumber isolasi) membran mukosa dari hewan atau manusia, tanaman, limbah, makanan terfermentasi misalnya susu asam, adonan yang asam, dll.

Contoh : *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus sporogenes* dll. *Bifidobacteria* pertama kali diisolasi dari feses atau kotoran bayi yang hanya minum air susu ibu (ASI) (Kusumawati, 2010)

Pada dasarnya BAL yang dikenal sebagai *food-grade* bakteri memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai :

- a. Starter fermentasi makanan untuk meningkatkan nilai gizi dan kualitas produknya, untuk proses *flavor* dan *food additives*.
- b. Agensia pengawet makanan. Bakteri asam laktat dikenal mampu mengawetkan makanan melalui beberapa metabolit yang dihasilkan seperti asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2). Beberapa bakteri asam laktat diketahui mampu menghasilkan antibakteri yang disebut sebagai bakteriosin (UGM, 2007) Pemanfaatan bakteri Asam Laktat oleh manusia telah dilakukan sejak lama. BAL mampu memproduksi Asam Laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hidrogen, peroksida, bakteriosin (Rostini, 2007)

Fermentasi merupakan proses metabolik dimana terjadi oksidasi karbohidrat dan komponen lainnya dengan terlepasnya energi. Senyawa karbohidrat yang biasa dipecah menjadi asam laktat ialah glukosa, sukrosa, dan laktosa. BAL tidak hanya menurunkan pH media, tetapi juga menghasilkan antibiotik yang sering disebut sebagai bakteriocin, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk (Candra, 2006).

Sifat yang terpenting dari BAL adalah kemampuannya untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk fermentasi seperti fermentasi sayur-sayuran, fermentasi susu (keju, yoghurt, susu asam), dan fermentasi ikan (silase, bekasem, chaoteri, terasi) karena produk-produk oleh bakteri asam laktat cepat, maka pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat (Lie, 1995).

BAL terutama memfermentasi monosakarida dan disakarida, tetapi di dalam kasus tertentu juga memfermentasi polisakarida, pati. Bakteri asam laktat yang memecah glukosa menjadi asam laktat disebut bakteri asam laktat homofermentatif. Berikut prosesnya dapat ditunjukkan sebagai berikut :

glukosa -----> 2 asam laktat

Grup lain yang dikenal sebagai bakteri asam laktat heterofermentatif memecah glukosa menjadi asam laktat, CO₂, etil alkohol, dan kadang-kadang asam asetat. Proses fermentasi yang umum dari tipe ini sebagai berikut:

glukosa -----> asam laktat + CO₂ + etil alkohol (Lie, 1995).

D. Jamur *Aspergillus flavus*.

Aspergillus flavus adalah jamur pantogen yang sering ditemui pada bahan-bahan pakan seperti pada komoditas kacang kacangan. Pakan yang berbahan baku tepung ikan, kacang kacangan, jagung, daging, biji bijian dan buah juga sangat rentan terkena kontaminasi jamur ini. Kontaminasi jamur *Aspergillus flavus* terjadi mulai dari penyiapan bahan baku pakan, penyumpakan, pengolahan pemasaran sampai pada konsumen. Jamur ini menghasilkan mikotoksin sebagai metabolitnya. *Aspergillus flavus* memiliki

mitotoksin yang paling banyak ditemukan dan sangat berbahaya disebut juga aflatoxin (Rahmanna dan Taufiq, 2003).

Jamur *Aspergillus flavus* dapat menyebabkan berbagai tingkat dekomposisi pakan. Jamur ini dapat tumbuh di media biji bijian yang belum dipanen, hasil panen yang sedang disimpan, bahan pakan yang sedang diolah ataupun yang sedang dipasarkan. Bahan pakan yang mengalami dekomposisi oleh jamur ini menyebabkan kerusakan pada pakan (Tournas dkk, 2001). Jenis jamur ini dapat memproduksi zat racun yaitu mitoksin yang menyebabkan kerusakan pada pakan (Ganjar dkk, 2006)

Menurut Alvarez dkk. (2010) bahwa klasifikasi *Aspergillus flavus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Pezizomycotina
Classis	: Eurotiomycetes
Sub classis	: Eurotiomycetidae
Ordo	: Eurotiales
Familia	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus Flavus</i>



Gambar. 2.2 Jamur *Aspergillus flavus* (Sumber Syahtya, 2019)

Gambar diatas merupakan gambar dari kingdom fungi atau jamur dari genus *Aspergillus* dan spesiesnya adalah *Aspergillus flavus*.

E. Hipotesis

Isolat Bakteri Asam Laktat dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) asal Sumba Barat Daya memiliki aktivitas antikapang terhadap *Aspergillus flavus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021. Tahap pembuatan tape, sterilisasi, pembuatan media, isolasi, dan uji antikapang. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Biologi Universitas Kristen Artha Wacana Kupang.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri (pyrex), tabung reaksi (pyrex), pipet tetes, batang L, spatula, jarum ose, bunsen, inkubator (memert), autoklaf (hirayama), *Hot plate*, mikropipet (socorex), mikropipet tip, timbangan analitik (ohaus), mikroskop, gelas obyek, penggaris, kapas, kamera, stopwatch, baskom plastik dengan tutupannya, sendok, panci, kompor, pisau, daun pisang.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain umbi talas bentul asal Sumba Barat Daya, ragi tape NKL, *Aspergillus flavus*, MRS (*de Man Rogosse Sharp*)-Agar, Aquades, PDA (Potato Dextrose Agar), PCA, NaOH, Kristal violet, Lugol, Aseton, Safranin, H₂O₂ 3%,.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan melakukan isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* L.) asal Sumba Barat Daya dan uji aktivitas antikapang. Metode deskriptif kualitatif berupa isolasi dan identifikasi bakteri secara morfologi meliputi bentuk bakteri, warna bakteri, diameter bakteri. Metode deskriptif kuantitatif berupa hasil uji antikapang dengan mengukur diameter pertumbuhan koloni jamur hingga hari ke 3.

D. Prosedur Penelitian

1. Tahap Pembuatan Tape Talas Bentul

Pembuatan tape dari talas dengan metode Fermentasi. Berikut adalah tahapan pembuatan tape (Sanjaya dkk. 2018) :

- 1) Pemilihan umbi talas dengan usia panen 6-7 bulan sebanyak 500 gram.
- 2) Talas dikupas kulitnya lalu dicuci sampai bersih hingga lendirnya berkurang.
- 3) Talas dipotong balok kecil, lalu direndam dalam larutan garam dalam waktu 60 menit.
- 4) Talas yang telah direndam kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa larutan perendam.
- 5) Talas dikeringkan lalu dikukus dengan waktu pengukusan selama 20 menit sebelum di taburi ragi lalu talas diangkat untuk didinginkan.
- 6) Talas yang telah dingin ditempatkan dalam sebuah wadah yang dilapisi daun pisang yang sudah dibersihkan.

7) Setelah itu, ragi merk NKL ditaburi secara merata dengan jumlah takaran yang sama yaitu 0,5 gram untuk 100 gram talas kemudian wadah ditutup rapat dengan waktu 48jam untuk memaksimalkan proses fermentasi.

2. Sterilisasi dan Pembuatan Media

Semua peralatan yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Peralatan yang terbuat dari gelas, disterilkan dalam oven pada suhu 160°C - 170°C selama 1 jam. Sedangkan alat – alat yang tidak tahan pada pemanasan dengan suhu tinggi, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung menggunakan bunsen hingga memijar.

Media MRS Agar digunakan sebagai media isolasi bakteri. Pembuatan media diawali dengan menimbang Media MRS Agar sebanyak 6,28 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL dan ditambah CaCO₃ 1% di dalam labu Erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk menggunakan *Hot plate* dan *stirrer* sampai homogen. Media yang sudah homogen disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. larutan MRSA dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan ± 5 ml dengan kondisi tertutup, dan diamkan sampai membeku. (Ismail,dkk., 2017)

3. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Sampel yang digunakan yaitu tape talas bentul dengan waktu inkubasi 48 jam. Tape talas bentul ditimbang sebanyak 0,1 gram, kemudian diencerkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades

yang sudah steril lalu dihomogen menggunakan vortex. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel kemudian dimasukkan kedalam pengencer pada tabung reaksi 10^{-2} steril, setelah itu ambil 1 ml pengencer 10^{-2} dan masukkan kedalam pengencer 10^{-3} , lakukan hal yang sama hingga pengencer 10^{-6} . Pengenceran 10^{-5} di ambil sebanyak 0,5 ml lalu di *spread* diatas media MRSA yang ditambah CaCO_3 1%, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. (Koreasi.,2019)

4. Karakterisasi Bakteri

a. Pengamatan morfologi koloni Bakteri Asam Laktat

Pengamatan morfologi koloni dilakukan setelah mendapatkan biakan murni. Pengamatan morfologi meliputi bentuk, warna, dan tepian. Permukaan koloni dapat dilihat dari samping dan tepi koloni dapat dilihat dari atas cawan (Hadioetomo dalam Ismail *dkk.*,2017)

b. Uji Pewarnaan Gram

Pengecatan Gram dilakukan pada kultur bakteri umur 48 jam yang ditumbuhkan pada medium MRS padat. Preparat ulas dibuat pada gelas benda, difiksasi di atas api bunsen. Preparat ditetesi dengan larutan kristal ungu, didiamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan alkohol 95% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati dengan mikroskop, uji gram

positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah (Ernawati, 2010).

c. Uji Katalase

Uji katalase berdasarkan Widyadnyana *et al.*, (2015), dengan diambil satu tetes kultur isolat selanjutnya ditetesi dengan H₂O₂ 3% dan diamati adanya gelembung gas yang terbentuk. Jika terdapat gelembung gas berarti uji katalase tersebut positif

5. Uji Aktivitas Antikapang

Jamur *Aspergillus flavus* ditumbuhkan pada media PDA dengan suhu ruang selama 5 hari hingga terjadi sporulasi. Uji aktivitas antikapang menggunakan media PCA. Isolat jamur dibuat cetakan menggunakan pangkal *Blue tip* kemudian menggunakan jarum ose untuk memindahkan jamur pada media PCA yang berisikan bakteri uji, selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator dan dilakukan pengamatan sampai hari ke 3 pada suhu ruang (28°C), diameter tumbuh koloni jamur *Aspergillus flavus* diukur dengan menggunakan mistar dalam satuan sentimeter.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif kualitatif. Deskriptif kualitatif berupa isolasi, identifikasi bakteri secara morfologi meliputi bentuk bakteri, warna bakteri, dan deskriptif kuantitatif yaitu mengukur diameter tumbuh koloni jamur *Aspergillus flavus*. (Handayani, 2015)

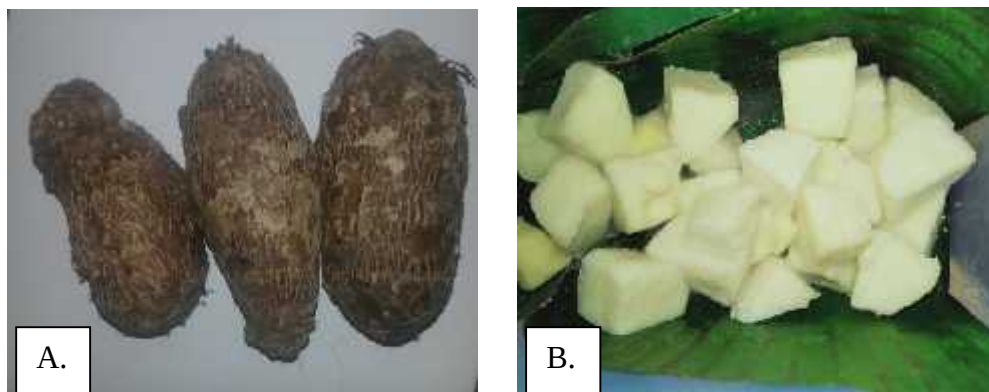
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L.)Schott)

Sampel talas bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) asal Sumba Barat Daya akan diolah menjadi tape dan digunakan untuk memperoleh isolat BAL. Menurut hasil penelitian dari Nuraida dkk. (2006) Ekstrak talas dapat mendukung pertumbuhan BAL, namun pertumbuhan *Bifidobacteria* lebih baik. Hal ini berkaitan dengan kemampuan *Bifidobacteria* sp. yang mampu menggunakan karbohidrat kompleks dengan lebih baik dibanding golongan *Lactobacillus* sp. Ekstrak ini mengandung oligosakarida. Keberadaan gula sederhana seperti sukrosa dan maltosa di dalam ekstrak talas mendukung pertumbuhan BAL.

Pemilihan umbi talas bentul dengan usia panen 6-7 bulan sebanyak 500 gram yang akan diolah menjadi tape dengan metode Fermentasi (Sanjaya, 2018).



Gambar 4.1(a.) Umbi Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott), (B.) Tape Talas Bentul. **Sumber:** Dokumentasi Peneliti, (2021)

Talas bentul yang diperoleh di kupas kulitnya lalu dicuci sampai bersih tujuannya agar lendirnya berkurang, lalu dipotong balok kecil kemudian direndam dalam larutan garam dalam waktu 60 menit tujuannya agar mengurangi rasa gatal pada talas. Talas dikukus dengan waktu pengukusan selama 20 menit diangkat untuk didinginkan, Talas yang telah dingin ditempatkan dalam sebuah wadah yang dilapisi daun pisang yang sudah dibersihkan, Setelah itu, ragi merk NKL (Na Kok Liong) ditaburi secara merata dengan jumlah takaran yang sama yaitu 0,5 gram untuk 100 gram talas kemudian wadah ditutup rapat dengan waktu 48 jam untuk memaksimalkan proses fermentasi. Pada ragi merk NKL terdapat spesies mikroorganisme yang bersifat amilolitik. Jenis mikroorganisme yang terdapat dalam ragi merk NKL yaitu *Pediococcus*, *Amylomyces sp*, *Aspergillius sp*, *Mucor sp*, *saccharomyces sp*, *Candida sp* (Winarni, 1998 dalam Kuswanto, 1994).

Setelah 48 jam fermentasi tape akan diambil isolatnya dengan cara pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-6} lalu di *spread* ke dalam media MRSA (*de Man Rogosse Sharp Agar*) kemudian dibiarkan selama 2 hari sehingga terdapat pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Setelah 2 hari, bakteri tumbuh dengan ciri-ciri terlihat seperti bintik-bintik putih pada media.

Koloni yang tumbuh pada media MRSA merupakan BAL karena media MRSA didesain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat termasuk genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*. Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada media MRSA karena mengandung beberapa komponen yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri tersebut. Media MRSA mengandung dekstrosa, ekstrak daging, ekstrak ragi, ammonium

sitrat, magnesium sulfat, pepton, natrium asetat, dikalium fosfat, tween 80 dan mangan sulfat. Kandungan ammonium sitrat pada pH rendah menunjang pertumbuhan BAL. Dikalium fosfat dan natrium asetat merupakan dapar untuk menjaga pH tetap rendah, sementara tween 80 adalah pelarut zat-zat lain. Mangan dan magnesium sulfat merupakan sumber dari ion dan sulfat. Sedangkan pepton, daging dan ragi adalah sumber nutrisi untuk pertumbuhan karena mengandung nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino. Dekstrosa adalah karbohidrat fermentasi yang berfungsi sebagai karbon dan sumber energi (De Man dkk. (1960) dalam Sari dkk., 2016)

Purifikasi dilakukan dengan dikarakterisasi berdasarkan pengamatan morfologi meliputi bentuk, permukaan, warna, dan tepian (Hadioetomo dalam Ismail dkk., 2017), karakteristik mikroskopik meliputi pewarnaan gram dan uji katalase.

Purifikasi dilakukan dengan mengambil 1 ose dari masing-masing koloni bakteri untuk dimurnikan sampai dengan mendapatkan isolat tunggal yaitu 1 koloni bakteri dalam 1 media pertumbuhan. Purifikasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan koloni bakteri berdasarkan karakter morfologinya agar didapatkan isolat tunggal bakteri. Beberapa jenis yang penting dari bakteri asam laktat adalah sebagai berikut:

- a. *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*. Semuanya ini adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat (coccus). Bakteri ini termasuk dalam *family streptococcaceae*, yaitu spesies dari genus *streptococcus*, *leucoccus* dan *Aerococcus*.

Streptococcus merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara berpasangan atau membentuk rantai pendek dan panjang tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat homofermentatif dan beberapa jenis dapat memproduksi asam laktat secara cepat pada kondisi anaerobik, oleh karena itu bakteri ini sering digunakan dalam pengawet makanan, terutama untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembentuk racun. Kebanyakan bakteri ini bersifat proteolitik dan lipolitik. Ciri-ciri lainnya bersifat fakultatif anaerob, katalase negatif dan mampu memfermentasikan glukosa (Kusumawati, 2006).

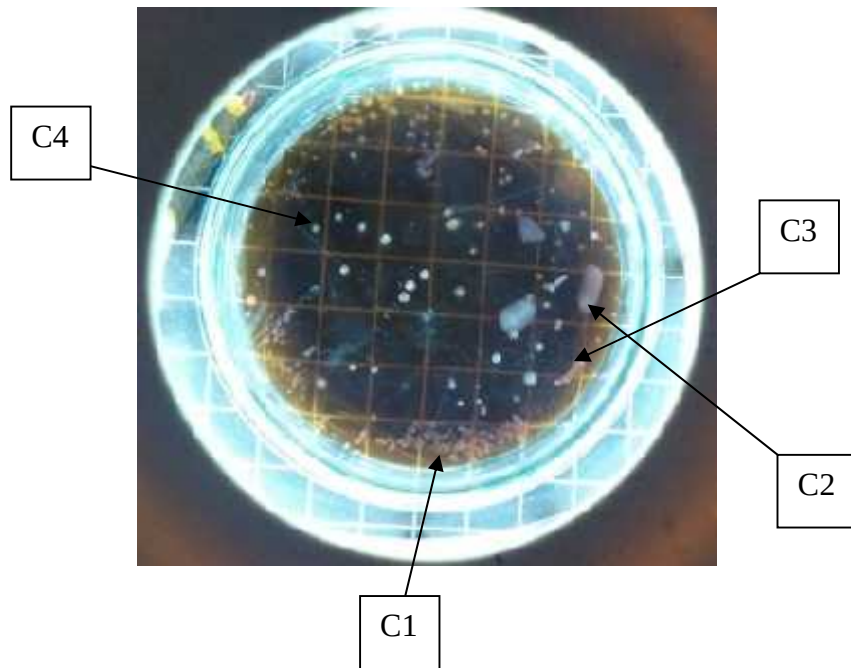
- b. *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*. Organisme-organisme ini adalah bakteri berbentuk batang, termasuk bakteri Gram positif dan sering membentuk pasangan dari rantai sel-selnya. Jenis ini umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dari pada jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus* dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Bakteri-bakteri ini penting sekali dalam fermentasi susu dan sayuran. Bakteri *Lactobacillus* memiliki habitat asli (sumber isolasi) membran mukosa dari hewan atau manusia, tanaman, limbah, makanan terfermentasi misalnya susu asam, adonan yang asam, dll. Contoh : *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus sporogenus* dll. *Bifidobacteria* pertama kali diisolasi dari feses atau

kotoran bayi yang hanya minum air susu ibu (ASI) (Kusumawati, 2010). Data isolat dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat

Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Secara Makroskopis			
	Bentuk	Warna	Permukaan koloni	Tepi
C1	Tidak beraturan	Putih	Halus dan rata	Rata
C2	Tidak beraturan	Putih	Halus dan rata	Rata
C3	Bulat	Putih	Cembung	Rata
C4	Bulat	Putih	Cembung	Rata

Data tabel 4.1 menunjukkan karakterisasi isolat bakteri asam laktat secara makroskopik pada tape talas bentul. Berdasarkan bentuk, warna, permukaan koloni, dan tepi di peroleh total 4 isolat dengan kode koloni (C) C1,C2,C3,C4. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis pada tabel 4.1 tampak dua koloni berbentuk bulat dan dua koloni berbentuk tidak beraturan, semua koloni berwarna putih, permukaan koloni C1 dan C2 berbentuk halus dan rata sedangkan C3 dan C4 berbentuk cembung, tepi koloni semua berbentuk rata, diduga C3 dan C4 adalah ciri-ciri morfologi bakteri asam laktat karena hasil penelitian ini sama dengan Pawe (2015) yang memperoleh satu isolat BAL dengan bentuk koloni bulat, tepian koloni rata, permukaan koloni cembung. Nurhasanah (2017) yang mengisolasi BAL dari susu kambing juga memperoleh BAL dengan karakteristik morfologi koloni berbentuk bulat, tepian rata atau bergerigi, elevasi cembung dan warna putih susu atau krem. Berikut gambar 4.1 hasil isolasi bakteri dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott).



Gambar 4.2 Hasil Isolasi Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott).
Sumber: Dokumentasi Peneliti, (2021)

B. Uji Mikroskopik dengan Pengecetan Gram

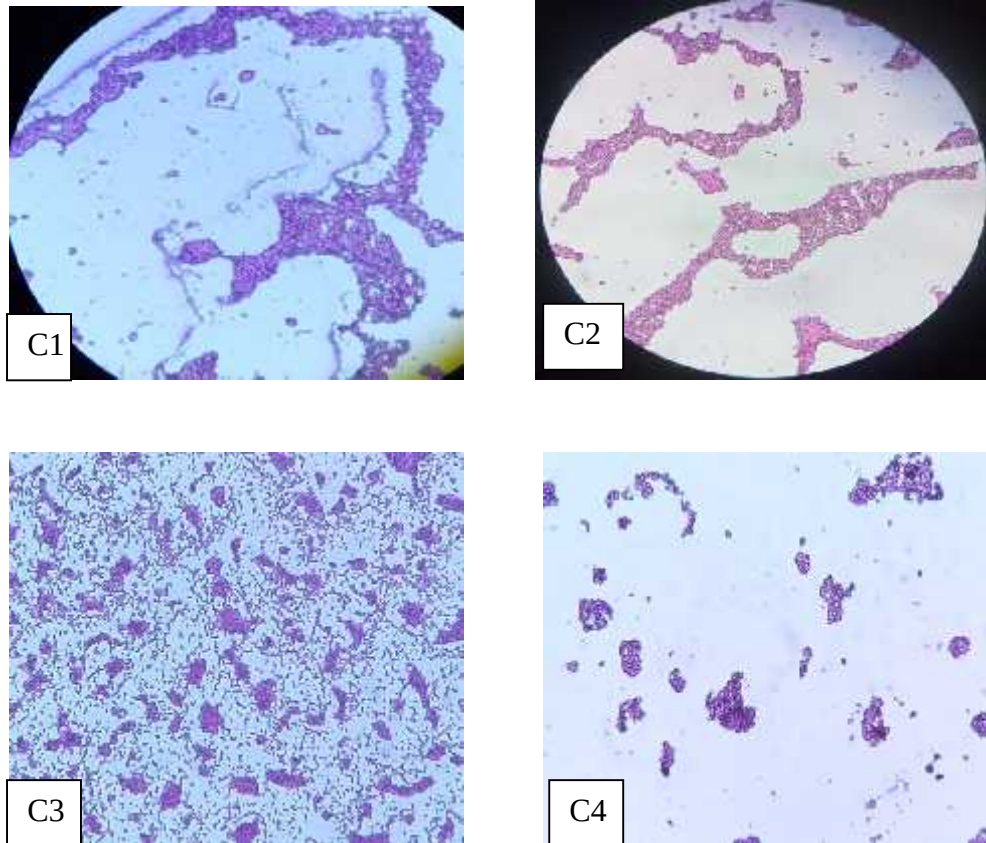
Hasil uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat merupakan bakteri gram negatif yang ditandai warna merah dan gram positif yang ditandai warna ungu pada sel bakteri yang diamati secara mikroskopik menggunakan mikroskop, hal ini disebabkan karena Bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol 96%. Protein tersebut mengakibatkan pori-pori mengecil sehingga kompleks kristal violet terbentuk dan sel bakteri tetap berwarna ungu. Bakteri Gram positif juga memiliki peptidoglikan yang tebal dan permeabilitas yang rendah sehingga kompleks kristal violet dan iodium tetap tertahan pada sel dan tidak dapat keluar. Sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah akibat tipisnya dinding peptidoglikan sehingga kristal violet terbuang selama

proses dekolorisasi dan pemberian safranin akan mengecat bakteri gram negatif menjadi merah. Pengamatan secara mikroskopik juga dapat menentukan bentuk sel bakteri (Ningsih dkk., 2018).

Tabel 4.2 Uji Mikroskopik Dengan Pengecatan Gram

Kode Isolat	Pengamatan		
	Warna	Bentuk	Keterangan
C1	Ungu	Coccus (bulat)	Gram positif
C2	Merah muda	Coccus (bulat)	Gram negatif
C3	Ungu	Bacilli (batang)	Gram positif
C4	Ungu	Coccus (bulat)	Gram positif

Data tabel 4.2 menunjukkan karakterisasi isolat bakteri asam laktat secara mikroskopik dengan pewarnaan gram. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ditemukan bahwa isolat C2 termasuk dalam gram negatif ditandai dengan warna merah muda pada isolat dan berbentuk bulat, sedangkan isolat C1 dan C4 termasuk dalam gram positif ditandai dengan warna ungu pada isolat dan berbentuk bulat, isolat C3 termasuk gram positif yang diamati dibawah mikroskop dengan isolat berbentuk batang. Isolat C3 diduga adalah bakteri asam laktat dari genus *lactobacillus*, hal ini sesuai dengan hasil pewarnaan gram dari Andayani dkk. (2014) menyatakan bahwa *lactobacillus sp* adalah kokobasilus (berbentuk batang berujung bulat) dan membentuk rantai panjang yang berwarna ungu agak kebiruan. Menurut Surono (2004) menyatakan bahwa variasi karakteristik BAL normal terjadi, namun yang mutlak dari BAL adalah sifatnya sebagai bakteri Gram positif.



Gambar 4.3 Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul. **Sumber:** Dokumentasi Peneliti, (2021)

C. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim katalase pada bakteri yang diuji. Enzim katalase atau peroksodase sangat berperan dalam kelangsungan hidup mikroba (Karimela dkk. 2017). Uji katalase ini mendeteksi enzim katalase pada beberapa bakteri yang bersifat anaerobik fakultatif dan bakteri aerobik yang mengandung sitokrom kecuali bakteri yang tergolong pada *Streptococcus* and *Enterococcus* (Services, 2015). Uji katalase berguna dalam identifikasi kelompok bakteri tertentu. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung gas (O_2) setelah dilakukan penambahan beberapa tetes H_2O_2 3% dan reaksi negatif tidak menghasilkan

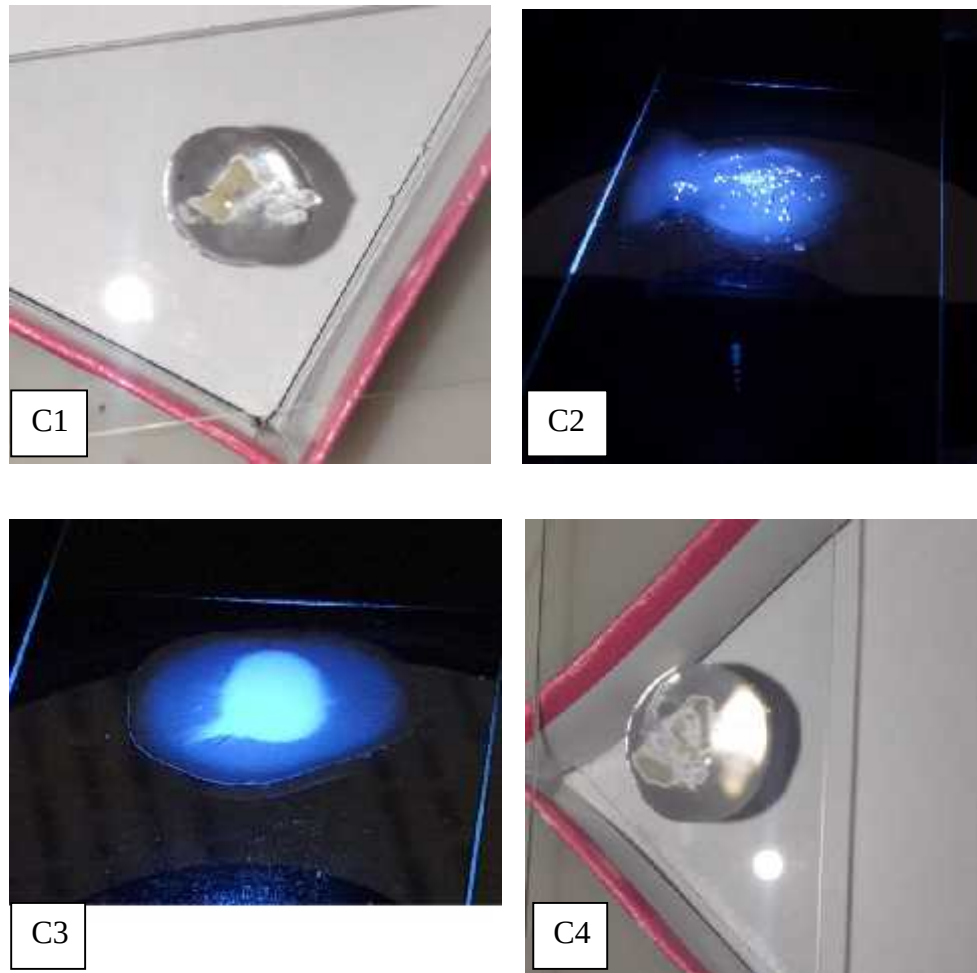
gelembung-gelembung H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri gram negatif sehingga tidak menghasilkan oksigen. Hasil uji katalase Bakteri Asam Laktat (BAL) pada tape talas bentul tertera pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Uji Katalase

Kode Isolat	Uji katalase
C1	Negatif
C2	Positif
C3	Negatif
C4	Negatif

Berdasarkan uji katalase pada tabel 4.3 maka dapat diketahui kode isolat C2 mempunyai hasil positif sedangkan kode isolat C1, C3 dan C4 mempunyai hasil negatif berarti isolat bersifat anaerobik fakultatif. Kode isolat C1 dan C4 diduga bakteri *streptococcus sp.* Hasil penelitian ini sama dengan yang dihasilkan oleh Toelle dan Lenda (2014) bahwa bakteri *streptococcus sp.* mempunyai hasil uji katalase negatif. Sedangkan kode isolat C3 diduga adalah bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*, hal ini sesuai dengan pernyataan Ernawati (2012) bahwa bakteri *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat bersifat fakultatif anaerob. Menurut Dwidjoseputro (1978) BAL dari genus *Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri yang tidak memiliki enzim katalase, tetapi memiliki enzim peroksidase untuk mengubah H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O . Enzim peroksidase membutuhkan reduktan seperti NADH untuk mengkatalis H_2O_2 menjadi H_2O . Hal ini sesuai dengan penelitian Stamer (1979) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase

negatif. Yousef (2003) mengatakan bahwa telah umum diketahui bahwa BAL memiliki sifat anaerob tetapi mampu mentoleransi adanya oksigen dan memetabolisme karbohidrat melalui jalur fermentasi.



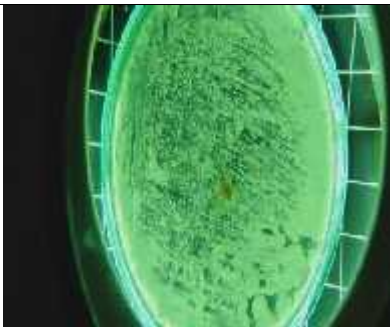
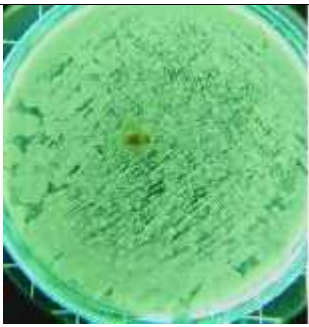
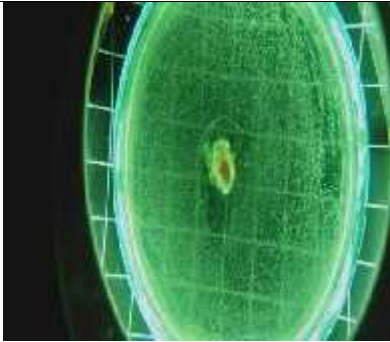
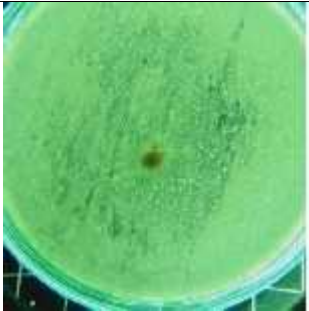
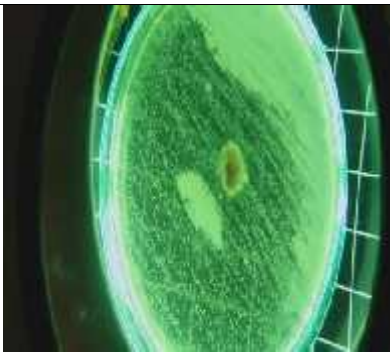
Gambar 4.4 Uji Katalase Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul.*Sumber: dokumentasi peneliti, (2021)*

D. Uji Aktivitas Antikapang

Pada uji aktivitas antikapang menggunakan 1 isolat yaitu kode isolat C3 dan 3 kali pengulangan. Media yang digunakan untuk uji aktivitas antikapang adalah PCA (Plate Count Agar), media ini dapat ditumbuhi semua jenis

bakteri, kapang, dan khamir. PCA bukan merupakan media selektif karena media ini tidak hanya ditumbuhi oleh satu jenis mikroorganisme tertentu (Syamsuri, 1992). Dari penelitian yang dilakukan didapatkan hasil uji aktivitas antikapang yang dapat dilihat pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Pengamatan Uji Aktivitas BAL Dalam Menghambat Pertumbuhan *Aspergillus flavus* Sampai Hari Ke-3

Kode isolat	Hari ke-1	Gambar	Hari ke-2	Gambar
C3U1	8 mm		9 mm	
C3U2	8 mm		8 mm	
C3U3	10 mm		11 mm	
Rata-Rata	8,6 mm		9,3 mm	

Kode isolat	Hari ke-3	Gambar	<i>A. flavus</i> dalam media PCA tanpa BAL selama 3 hari
C3U1	9 mm		
C3U2	9 mm		
C3U3	12 mm		
Rata-Rata	10 mm		

Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat BAL diencerkan dalam 9 ml aquades steril setelah itu homogenkan menggunakan vortex lalu spread kedalam media PCA dan ratakan menggunakan batang L, setelah itu di ambil 1 ose jamur *Aspergillus flavus* yang sudah dibuat cetakan menggunakan pangkal *blue tip* steril lalu

ditanamankan pada media PCA yang sudah berisi BAL, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada kode isolat C3 dengan 3 kali ulangan dilakukan pengamatan pada diameter pertumbuhan koloni jamur sebanyak 3 kali pengamatan. Isolat BAL dari tape talas bentul menunjukkan adanya kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dengan hasil yang bervariasi. Pengamatan pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus flavus* hari ke-1, ke-2, ke-3 berturut-turut 8.9 mm, 9.3 mm dan 10 mm, pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada hari pertama sampai hari kedua perbedaan diameter tumbuh 0,7 mm, sedangkan dari hari ke 2 sampai hari ke 3 selisih tumbuh 0,7 mm. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa BAL memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus*. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Koriasih dkk. (2019) mengatakan bahwa hasil uji menunjukkan BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Penghambatan pada BAL terjadi karena adanya asam organik dan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh BAL serta persaingan nutrisi pada media.

BAB V

PENUTUP

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari tape talas bentul (*Colocasia esculenta* (L) Schott) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Isolat dari tape talas bentul telah digunakan sebagai bakteri uji untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*, pembentukan aktivitas antikapang diujikan pada kode isolat C3 yang diduga sebagai bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*. Dari hasil pengamatan ditemukan bahwa isolat C3 memperlambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dilihat dari hasil pengamatan dari hari pertama sampai hari kedua diameter tumbuh koloni jamur 0,07 mm dan hari kedua sampai hari ketiga 0,07 mm.

B. SARAN

Adapun saran-saran dari penulis

1. Kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk mengisolasi bakteriosin dari isolat BAL tape talas bentul untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen.
2. Saran dari peneliti kepada pembaca agar melakukan penelitian uji daya hambat BAL kepada mikroba patogen lainnya.
3. Ketersediaan talas bentul di Sumba sangat banyak dan kebanyakan masyarakat disana memanfaatkan talas bentul sebagai pakan ternak. Saran dari peneliti agar bisa membuat olahan/produk seperti tape, kripik, dan tepung dari talas bentul untuk di pasarkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez-Perez, S., A. Mateos, L. Dominguez, E. Martinez-Nevado, J.L. Blanco, M.E.Gracia. 2010. Polyclonal *Aspergillus fumigatus* Infection In Captive Penguins. *Veterinary Microbiology*
- Amaruddin. 2013. *Perubahan Fisik Talas (Colocasia esculenta L.) Selama Pengeringan Lapis Tipis*. Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar. *Skripsi*.
- Annisa, Z. 2015. “ *Ebook umbi talas*” , www.academiedu.com
- Arif Priadi dan Tri Silawati. 2004. Sains Biologi Kelas 1 SMA. Jakarta: Yudhistira.
- Astawan M. 2004. Sehat bersana aneka sehat pangan alami. Solo : Tiga serangkai.
- BPOM. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Pusat Pengujian Obat dan Makanan RI, Jakarta.
- Cheong, E.Y.L., A. Sandhu, J. Jayabalan, T. T. Kieu Le, N. T. Nhiep , H. T My Ho, J. Zwielehner, N. Bansal and M.S. Turner. 2014. Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilagemould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese. *Food Control*.
- Dewi, Sofya Khusuma. 2008. *Pembuatan Produk Nasi Singkong Instan Berbasis Fermented Cassava Flour Sebagai Bahan Pangan Pokok Alternatif*. *Skripsi*. Bogor: IPB.

- Dalie, D.K.D., A.M. Deschamps, and F. Richarrrd-Forget. 2010. Lactic acid bacteria: potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. Food Control.
- Ernawati. 2010. Isolasi dan identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Susu Kambing Segar, Universitas Islam Negeri Malang:Malang.
- Gandjar, I. R., Wellyzar, S., Ariyanti O. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Glazer, Alexander N., dan B.H. Nikaido. 2007. *Microbial Biotechnology : Fundamentals of Applied Microbiology, Second Edition*. Cambridge University Press. New York.
- Hassan, Z.H. 2014 Aneka tepung berbasis bahan baku lokal sebagai sumber pangan fungsional dalam upaya meningkatkan nilai tambah produk pangan lokal. Jurnal Pangan.
- Heditia Febby Susanto. 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) kandidat penghasil bakteriosin dari ikan asap jenis manyung (*Arius thalassinus*). Skripsi Tidak Dipublikasikan. Fakulstas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran. Jatinangor
- Ibrahim, A. dan fridayanti, A. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.). Jurnal Ilmiah Manuntung.
- Irma Rukmana Kadir. 2016. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) Kandidat Probiotik Asal Saluran Pencernaan Doc Broiler Terhadap Berbagai Kondisi Asam Lambung, Skripsi. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Makassar.

- Ismail, Y. S., Cut Y., dan Putriani. 2017. Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*). *BIOLEUSER*, 1(2):45-53 Agustus 2017. Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah, Darussalam. Banda Aceh.
- Jannah, Siti Nur. 2005. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* Dan Reduksi Aflatoksi Oleh *Lactobacillus plantarum* pi28a Selama Proses Pembuatan Oncom Hitam. Tesis. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Kanino, D. 2019. Pengaruh Konsentrasi Ragi Pada Pembuatan Tape Ketan (*The Effect of Yeast Concentration on Making Tape Ketan*). *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Agrokomplek*
- Kusmiati & Malik, A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* *Pbac1* pada berbagaimedia. Makara Kesehatan
- Koriasih,P., Siti N. Jannah, dan Budi Raharjo. 2019. Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* *NICHE Journal of Tropical Biology*
- Koswara, S. 2014. *Teknologi Pengolahan Umbu-Umbian Bagian 1 :Umbi Talas*. Bogor Agricultural University.USAID.Bogor
- Kusnanto, Febri. 2012. *Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein dan Daya Terima Tempe Biji Karet (Havea brasiliensis) sebagai Sumber Belajar Biologi SMA pada Materi Pokok Bioteknologi Pangan*. Metro Universitas Muhammadiyah Metro.
- Lie, Saw. 1995. *Isolasi dan seleksi BAL yang bersifat antimikroba dari pikelketimun dan acar*. *Fakultas teknologi pertanian*. Bogor.

- Maulina, F. D. A., Lestari, I. M., and Retnowati, D. S. (2012). Pengurangan Kadar Kalsium Oksalat pada Umbi Talas Menggunakan NaHCO₃: Sebagai Bahan Dasar Tepung. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*
- Misnani, A. 2011. *Getuk Talas Oven Substitusi Wijen Sebagai Jajanan Tradisional*, Surakarta:s.n.
- Lende, M. 2019. Inventarisasi Jenis Umbi-Umbian Dan Pemanfaatannya Sebagai Substitusi Bahan Pangan Pokok Di Desa Waimangura Kecamatan Wewewa Barat Kabupaten Sumba Barat Daya. Kupang
- Muchtadi, T.R. dan Sugiyono. 2013. Prinsip Proses Dan Teknologi Pangan. Alfabeta: Bandung
- Nur, Hasrul Satria. 2005. *Pembentukan Asam Oraganik oleh Isolat Bakteri AsamLaktat pada Media Ekstrak Daging Buah Durian (Durio Zibedhinur Mur)*. Fakultas MIPA. Universitas Lambung Mangkura. Kalimantan Selatan.
- <http://Plantamor.com/species/colocasia/esculenta>. (diakses 17 Desember 2020)
- Rahmanna dan A. Taufiq. 2003. Aflatoksin: senyawa racun pada biji kacang tanah. Bulletin Tani Tanaman Pangan Dan Holtikultura.
- Richana, N. 2012. Araceae dan Dioscorea : Manfaat Umbi-Umbian Indonesia. Nuansa. Bandung.
- Rimadhini, F. N., Sumardianto, and Romadhon., 2020. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Rusip Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) Dengan Konsentrasi Gula Aren Cair Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan Volume 2 No.1 (2020)*. Program Studi Teknologi Hasil

- Perikanan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rostini, Iis. 2007. *Peran Bakteri Asam Laktat (Lactobacillus Plantarum) terhadap Masa Simpan Pilet Nila Merah pada Suhu Rendah*. Universitas Padjajaran. Jati Nangor.
- Santosa, Agus. 2010 *Karakteristik Tape Buah Sukun Hasil Fermentasi Penggunaan Konsentrasi Ragi Yang Berbeda*. Jurusan Teknologi Pertanian. Universitas Widya Dharma Klaten. Klaten. Jurnal
- Sanjaya, AR., Mulyati, AH., dan Citreksoko, P. 2018. Diversifikasi Talas Bogor (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Sebagai Upaya Olahan Produk Tape Khas Bogor. Jurnal Ilmiah Dasar Dan Lingkungan Hidup.
- Sulistiani dan Iman Hidayat. 2020. Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Dari Temped An Tape Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA. Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: *A Scientific Journal* Vol 37, No 2 Mei 2020.
- Sujaya, N., Y. Ramona, NP Widarani, NP Suariani, NMU Dwipayanti. (2008). Isolasi dan karakteristik bakteri asam laktat dari susu kuda Sumbawa. J. Vet. 9 (2)
- Syahtya F. Faqih. 2019. Uji Kerusakan Kandungan Protein Dan Lemak Pelet Ikan Yang Disebabkan Oleh Jamur *Aspergillus flavus* Pada Perlakuan Suhu Yang Berbeda, Skripsi. Fakultas Pertanian-Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Sulistyowati, P. V., Kendarini, N. dan Respatijarti. 2014. Observasi keberadaan tanaman talas-talasan genus *Colocasia* dan *Xanthosoma* di Kecamatan

Kedungkandang Kota Malang dan Kecamatan Ampelgading Kabupaten Malang. Jurnal Produksi Tanaman.

Susanto, Feditia Febbi. 2020. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Kandidat Penghasil Bakteriosin Dari Ikan Asap Jenis Manyung (*Arius thalassinus*). Skripsi. Universitas Padjadjaran Fakultas Teknologi Industri Pertanian Departemen Teknologi Industry Pangan Jatinangor. Jatinangor

Sriyono. 2012. “Pembuatan Keripik Umbi Talas (*Colocasia giganteum*) dengan Variabel Lama waktu Penggorengan Menggunakan Alat Vacuum Fryer”, Laporan Tugas Akhir Program Studi Diploma III Teknik Kimia, Semarang.

Syarief, R. dan A. Irawati, 1988. *Pengetahuan Bahan untuk Industri Pertanian*. Jakarta : Mediyatama Sarana Perkasa.

Syahrurachman, A., Chatim, A. dan kurniawati, A., 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Binarupa Aksara. Jakarta

Tournas, V., M.E. Stack, P.B. Mislivec, and H.A. Koch. 2001. Yeast, Molds, and Mycotoxins. Washington, D.C.: U.S. Food & Drug Administration. Center for Safety and Applied Nutrition.

Ulinnuha, Aulia. 2018. Isolasi Dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Kulit Pisang Kapok (*Musa balbisiana*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang

Universitas Gadjah Mada. 2007. *Propek Bakteri Asam laktat Hasil Rekayasa Genetik. Industri Pangan*. UGM. Yogyakarta

- Wahyudi, D. 2010. *Pengaruh Sushu Perendaman Terhadap Kandungan Oksalat Dalam Talas Pada Proses Pembuatan Tepung Talas*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wijaya, Bryan Alfonsius., Gayatri Citraningtyas., Frenly Wehantou. 2014. Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta* L.) Sebagai Alternative Obat Luka Pada Kulit Kelinci (*Orytolagus Cuniculus*).Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT 3 (3).
- Widyadnyana DGA, Sukrama IDM, Suardana IW. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolate 9A Dari Kolon Sapi Bali Sebagai Probiotik Melalui Analisis Gen 16S.Rrna.*J. Sain.Vet.* Vol 33(2)

L

A

M

P

I

R

A

N



UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
JLN. ADISOECIPTO- OESAPA P.O.BOX.147 KUPANG NTT- 85000
TELP. (0380) 881669 FAX. (0380) 891584

SURAT KETERANGAN MOHON IJIN PENELITIAN
NOMOR: 598 /KP-UKAW/M.7/VI.2021

Lampiran : Proposal Penelitian

Kepada
Yth, Kepala UPT, Lab. Eksakta Pendidikan Biologi UKAW Kupang
Di-
Kupang

Yang bertanda tangan di bawah ini :

- | | |
|----------------------------------|--|
| 1. Nama | : Dr. Andreas J. F. Lumba, M.Pd |
| 2. NIP/NIDN | : 0806086801 |
| 3. Pangkat / Golongan/Ruang Gaji | : Pembina / IV A |
| 4. Jabatan | : Dekan FKIP - UKAW |
| 5. Pada Sekolah/Universitas | : Universitas Kristen Arta Wacana Kupang |
| Menerangkan bahwa | |
| 1. Nama | : Martini Ana Ambu |
| 2. NIM | : 16151538 |
| 3. Semester | : X (Sepuluh) |
| 4. Pada Fakultas / Prodi | : KIP / Pendidikan Biologi FKIP - UKAW |
| 5. Pada Tahun Akademik | : 2020/2021 |

Adalah benar Mahasiswa/i, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Kristen Artha Wacana Kupang, maka bersama ini kami kirimkan surat keterangan Mohon Ijin Penelitian kepada Bapak/Ibu dalam rangka meningkatkan Output Universitas Kristen Artha Wacana Kupang khususnya FKIP, maka setiap mahasiswa/i, yang akan menyelesaikan Studinya wajib untuk menyusun Karya Ilmiah (SKRIPSI), guna memperoleh gelar sarjana (S1).

Selubungan dengan perihal di atas maka kami mohon kesediaan Bapak/Ibu untuk memberikan Ijin Penelitian bagi mahasiswa/i dimaksud.

Judul Penelitian: ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI TAPE TALAS BENTUL (*Colocasia esculenta* (L) Schott) ASAL SUMBA BARAT DAYA SEBAGAI ANTIKAPANG TERHADAP *Aspergillus flavus*

Lokasi Penelitian : Lab. Eksakta Pendidikan Biologi UKAW

Demikian surat ini dibuat dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kupang, 16 Juni 2021
Dekan FKIP - UKAW
Dr. Andreas J. F. Lumba, M.Pd
NIDN: 0806086801

Tembusan :

1. Rektor UKAW
2. Kaprodi Pendidikan Biologi UKAW
3. Mahasiswa/i yang bersangkutan
4. Arsip.



UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
LABORATORIUM BIOLOGI
Jln. Adisucipto PO BOX 147 Oesapa NTT Indonesia Tlp 0380 881477

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN
NO.30/BIO-UKAW/M.7/II.2022

Yang bertanda tangan dibawah ini Koordinator Laboratorium Biologi, menerangkan bahwa:

Nama : Martini Ana Ambu

Nim : 16151538

Fakultas : KIP

Program Studi : Pendidikan Biologi

Judul Penelitian : Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Tape Talas Bentul (*Colocasia esculenta*
(L.) Schott) Asal Sumba Barat Daya Sebagai Antikapang Terhadap
Aspergillus flavus

Yang bersangkutan benar - benar telah melakukan penelitian di Laboratorium Biologi, pada tanggal
15 Juli sampai 20 September 2021

Surat keterangan ini diberikan dan untuk dipergunakan dengan sebagaimana mestinya.

Kupang, 08 Februari 2022

Ketua Prodi Pendidikan Biologi



Purnama Th. Nominetti, S.Pd, M.Pd
NIDK. 0821108401



UNIVERSITAS KRISTEN ARTHA WACANA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

JLN. ADISORECIPTO- OESAPA P.O.BOX.147 KUPANG NTT - 85000
TELEP. (0380) 881669 FAX. (0380) 881584

SURAT KETERANGAN BEBAS MATERI
NOMOR : 1302 / KP-UKAW/M.7/XII.2021

Pimpinan Wakil Dekan I Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Kristen Artha Wacana Kupang, menerangkan bahwa Mahasiswa yang namanya tersebut dibawah ini :

Nama : Martini Ana Ambu
Semester : XI (Sebelas)
Nim : 16151538
Jurusan / Progd : KIP / Pendidikan Biologi FKIP – UKAW
Pada Tahun Akademik : 2021/2022

Adalah Mahasiswa/i Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan, Telah "*Menyelesaikan Materinya*"
Pada Semester VIII Tahun 2019/2020

Adapun bahan-bahan dimasukkan :

1. Transkrip Nilai yang telah ditanda tangani Dosen PA mengetahui WD I (Asli dan FotoCopy) 1 Lembar
2. Kartu Tanda Rencana Studi (KRS) dan Foto-Copy 1 Lembar
3. Kartu Hasil Studi (KHS) dan Foto Copy 1 Lembar
4. Kwitansi SPP Terakhir Asli dan Foto Copy 1 Lembar

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kaprogd Pendidikan Biologi

(Fransina Th. Nomleni, S.Pd, M.Pd)
NIDN : 0821108401



Di buat : Di Kupang
Tanggal : 2 Desember 2021
An. Dekan FKIP
Wakil Dekan I,

(Dra. Anggreni D.N. Rupidara, M.Si, Ph.D)
NIDN : 0825986801

Tembusan :

1. Ka BAAKPSI-UKAW
2. Kaprogd Pendidikan Biologi FKIP - UKAW
3. Arsip

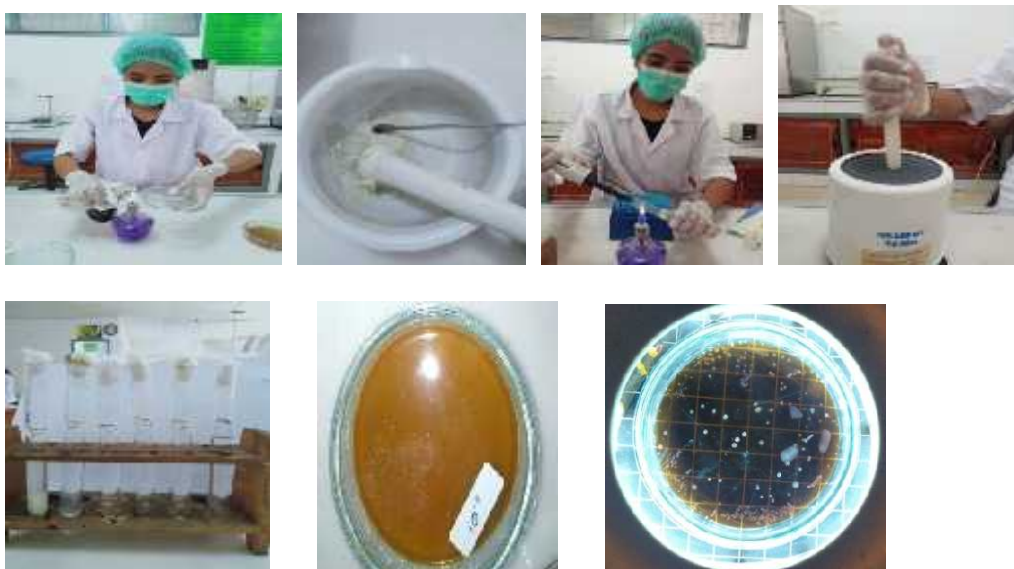
1. Tahap pembuatan tape talas bentul



2. Tahap sterilisasi dan pembuatan media MRSA



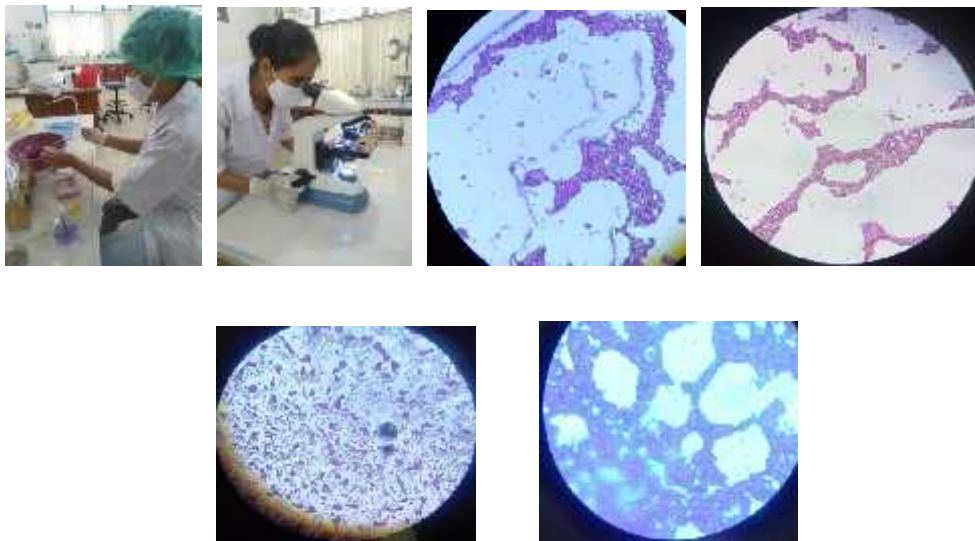
3. Isolasi bakteri asam laktat dari tape



4. Tahap purifikasi bakteri asam laktat



5. Tahap pewarnaan gram



6. Tahap uji antikapang

