

Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Isolation and partial characterization of indigenous fermenting bacteria from durian fruit (*Durio zibethinus* Murr.)

Azizah Nurmalinda^{*)}, Periadnadi dan Nurmiati.

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis, Padang-25136

^{*)}Koresponden : azizahnurmalinda@rocketmail.com

Abstract

The research related to the isolation and partial characterization of indigenous fermenting bacteria from durian fruit (*Durio zibethinus* Murr.) was conducted from May to August 2012 in Laboratory of Microbiology, Biology Department, Andalas University. Experimental method was used and was descriptively analyzed. Ripe durian fruit contain indigenous fermenting as well as nonfermenting bacteria, that was recognized from halozone around the colony on modified GTA medium. Indigenous fermenting bacterias on the flesh of durian fruit have been characterized as Gram-positive, bacil, no endospores, motile and catalase positive. These isolates are proteolytics, amylolytics and cellulolytics and have no ability to hydrolyze fats and alcohol.

Keywords : durian, fermenting, indigenous bacteria

Pendahuluan

Buah durian tidak hanya dikonsumsi segar namun juga dapat diolah melalui fermentasi yang dikenal dengan sebutan asam durian atau tempoyak. Rasa asam dari produk ini berasal dari fermentasi karbohidrat daging buah durian yang matang. Fermentasi durian yang mengikuti kebiasaan masyarakat adalah fermentasi spontan yakni tanpa penambahan starter (Yuliana, 2007). Selama fermentasi durian, tekstur durian berubah menjadi semi padat disertai aroma asam yang kuat. Keasamannya berkaitan dengan aktivitas bakteri asam laktat. Selain itu dikatakan juga bahwa dari bakteri yang ada di dalam tempoyak ditemukan sekitar 10% bakteri yang tidak mempunyai zona bening (Yuliana, 2005).

Asam-asam organik dari produk fermentasi merupakan hidrolisis asam lemak dan juga sebagai hasil aktivitas pertumbuhan bakteri. Penentuan kuantitatif asam organik pada proses fermentasi sangat penting untuk mempelajari kontribusi bagi

aroma sebagian besar produk fermentasi, alasan gizi dan sebagai indikator aktivitas bakteri (Bavilacqua dan Califano, 1989). Fermentasi asam durian pada dasarnya melibatkan dua golongan besar mikroflora (khamir dan bakteri pemfermentasi) alami (indigenous) buah durian matang. Bakteri indigenous dapat diperoleh dari mengisolasi bakteri tertentu pada suatu bahan (Labeda, 1990) contohnya di dalam buah-buahan tropis yang matang. Keberadaan mikroflora ini dapat dilacak secara *in vitro* melalui media-media spesifik.

Kandungan karbohidrat pada buah durian menunjukkan bahwa buah durian mengandung cukup karbohidrat untuk dihidrolisis menjadi gula reduksi pada proses fermentasi (Yuliana, 2005). Kandungan karbohidrat seperti gula-gula sederhana yang ada dalam buah durian mendukung kehidupan mikroflora alami pemfermentasi (khamir dan bakteri) ini untuk menjadi asam. Mikroorganisme tersebutlah yang memicu terjadinya fermentasi spontan. Kehadiran protein

dalam buah durian dapat menyokong pertumbuhan mikroflora-mikroflora ini terutama bakteri-bakteri laktat yang memerlukan sejumlah kecil protein dalam pertumbuhannya. Sementara itu kehadiran sejumlah kecil protein ini sekaligus akan memicu peristiwa pembusukan pada buah termasuk buah durian (Nurmiati dan Periadnadi, *unpublish*).

Informasi mengenai keberadaan bakteri indigenous fermentasi dari buah durian masih sangat terbatas sehingga perlu dilaksanakan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pada buah durian matang terdapat bakteri indigenous yang berperan dalam proses fermentasi durian secara spontan serta menentukan karakter parsial bakteri indigenous pemfermentasi dari buah durian.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen terhadap keberadaan dan karakteristik parsial isolat bakteri indigenous pemfermentasi dari buah durian yang dianalisis secara deskriptif. Sampel yang digunakan pada penelitian adalah beberapa buah durian yang diperoleh dari pedagang durian di Kota Padang yang berasal dari daerah Pesisir Selatan, Sumatera Barat. Durian yang digunakan merupakan durian yang matang dari pohon dan tidak melalui proses pemeraman. Selanjutnya dilakukan pengisolasian terhadap bakteri indigenous dari daging buah durian melalui proses pengenceran yang dilakukan secara aseptis. Hasil pengenceran sampel ditanam ke dalam media GTA modifikasi dengan metoda *pour plate* (Fardiaz, 1993) untuk menumbuhkan bakteri indigenous pemfermentasi dari daging buah durian, yang ditandai dengan terbentuknya daerah halo disekitar koloni bakteri. Isolat yang didapatkan akan dilanjutkan dengan beberapa uji untuk mengetahui karakteristik dan potesi isolat.

Uji karakteristik yang digunakan berupa pengamatan makroskopis koloni, mikroskopis bakteri, uji katalase, uji motilitas, pewarnaan spora, uji kemampuan fermentatif, proteolitik, amilolitik,

selulolitik dan lipolitik serta kemampuan bakteri dalam memanfaatkan alkohol. Untuk uji kemampuan bakteri digunakan beberapa medium selektif diantaranya medium Skim Milk Agar (Fatoni, 2008) dengan modifikasi komposisi skim milk 0,4 %, medium Agar Tepung Beras (modifikasi medium Starch agar Fardiaz (1993)), medium Glukosa Tripton Agar modifikasi, medium CMC agar (modifikasi Meryandini, (2009)), medium Rhodamin B agar (Kouker and Jaeger, 1987) dan medium alkohol agar (Periadnadi, 2003). Melalui uji kemampuan bakteri diperoleh Indeks Fermentatif (IF), Indeks Proteolitik (IP), Indeks Amilolitik (IA), Indeks Lipolitik (IL), Indeks Selulolitik (IS) dan Indeks Pemanfaatan Alkohol bakteri indigenous. Penghitungan nilai indeks dilakukan berdasarkan Jamilah *et al.* (2009).

Hasil dan Pembahasan

Keberadaan Bakteri Indigenous Pemfermentasi Buah Durian

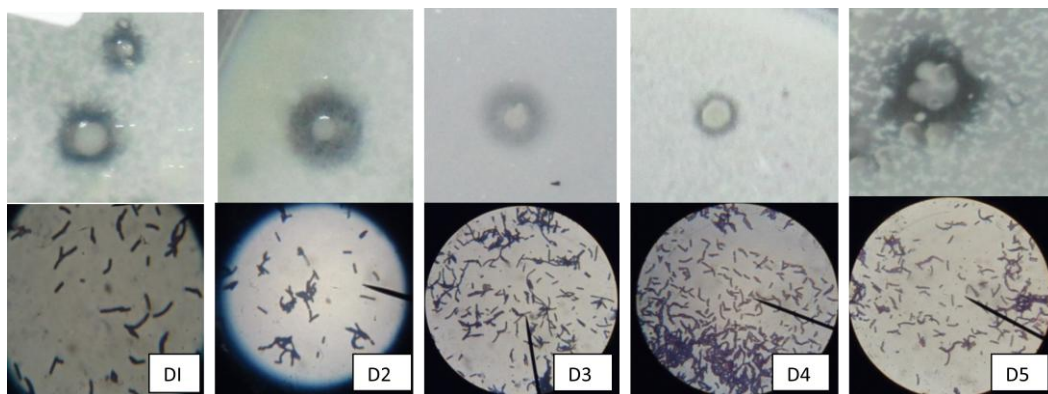
Bakteri Indigenous buah merupakan bakteri asli yang berada dalam buah. Bakteri ini masuk ke dalam buah diduga berasal pada saat penyerbukan tanaman. Bakteri berperan dan aktif disaat proses pematangan buah. Pada durian juga didapatkan bakteri indigenous pemfermentasi. Keberadaan bakteri ini dapat diketahui dengan terbentuknya *halozone* pada medium Glukosa Tripton Agar modifikasi, seperti pada Gambar 1.

Kemampuan suatu mikroba dalam mengubah substrat dapat dilihat dari daerah halo yang terbentuk pada suatu medium tumbuh. Semakin besar daerah halo yang terbentuk menandakan bahwa mikroba tersebut memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengubah substrat yang terkandung di dalam medium. Hal ini juga ditemukan pada buah durian yang dijadikan sampel. Bakteri indigenous buah durian memiliki kemampuan dalam merombak glukosa menjadi asam sehingga menyebabkan terbentuknya daerah halo di sekitar koloni bakteri yang dibiakan pada medium glukosa tripton agar modifikasi.

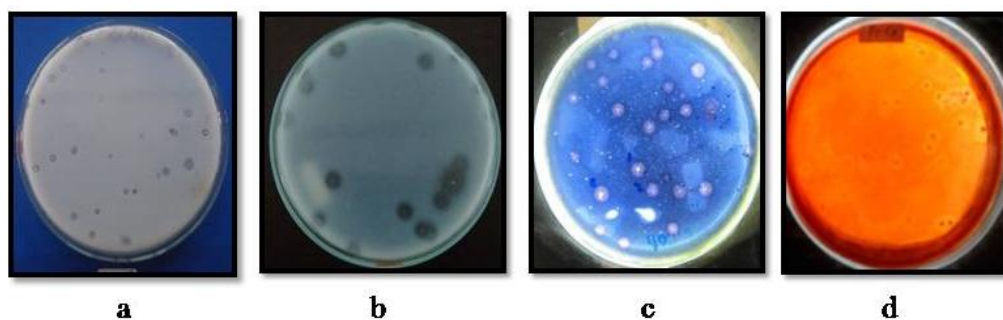
Tabel 1. Karakteristik Bakteri Indigenous Pemfermentatif dari Beberapa Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

No	Kode Isolat	Makroskopis	Mikroskopis	Sifat Gram	Endospora	Katalase	Motilitas	IF	IA	IS	IP
1	D1	Bulat, pinggiran rata, putih, timbul	Basil	Positif	Negatif	+	Motil	2,07	3,14	3,81	4,65
2	D2	Bulat, pinggiran rata, putih, timbul	Basil	Positif	Negatif	+	Motil	3,84	4,69	4,04	2,54
3	D3	Bulat, pinggiran tidak rata, putih, flat	Basil	Positif	Negatif	+	Motil	3,00	3,64	3,55	5,57
4	D4	Pinggiran tidak rata, putih, flat	Basil	Positif	Negatif	+	Motil	3,30	3,54	3,06	5,35
5	D5	Pinggiran rata, putih, timbul	Basil	Positif	Negatif	+	Motil	2,05	2,79	3,49	4,67

Ket. IF; Indeks Fermentatif, IA; Indeks Amilolitik, IS; Indeks Selulolitik dan IP; Indeks Proteolitik.



Gambar 1. Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian. D1; Isolat Sampel buah durian 1., D2; Isolat Sampel buah durian 2., D3; Isolat Sampel buah durian 3., D4; Isolat Sampel buah durian 4., D5; Isolat Sampel buah durian 5



Gambar 2. Potensi Isolat Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian. a; Kemampuan Fermentatif, b; Kemampuan Proteolitik, c; Kemampuan Amilolitik, d; Kemampuan Selulolitik.

Sebagaimana buah tropis dan *pulp* kakao yang telah diketahui adanya bakteri indigenous pemfermentasi (Rahmadani, 2011), pada buah durian yang diteliti juga ditemukan adanya bakteri indigenous

pemfermentasi. Bakteri indigenous ini didapatkan setelah dilakukan isolasi terhadap bakteri pada daging buah durian secara aseptis. Proses aseptis dilakukan dengan menyemprotkan alkohol pada kulit

buah durian, menjaga lingkungan dari mikroba pengkontaminasi dan melakukan sterilisasi terhadap alat dan bahan yang digunakan. Memperkuat adanya bakteri indigenous ini, bersamaan dengan penanaman bakteri juga dilakukan pembuatan medium kontrol. Medium kontrol merupakan medium yang dituang ke dalam cawan petri secara aseptis dari medium yang sama pada saat penanaman tanpa penambahan sampel. Jika medium kontrol tidak ditumbuhi oleh bakteri sedangkan medium sampel ditemukan adanya bakteri, menandakan bahwa di dalam sampel terdapat bakteri yang benar-benar berasal dari sampel tersebut. Pada penelitian ini didapatkan medium kontrol yang tidak ditumbuhi oleh bakteri maupun jamur.

Karakteristik Bakteri Indigenous Pemfermentasi Buah Durian

Secara keseluruhan karakteristik bakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Masing masing isolat memiliki bentuk makroskopis yang berbeda namun bentuk sel bakteri sama, yaitu berbentuk basil dan berwarna ungu (Gambar 1). Uji katalase dan motilitas isolat bakteri indigenous memperoleh hasil yang positif, ditandai dengan terbentuknya gelembung udara dan terjadinya pertumbuhan menyebar pada medium penanaman isolat. Pada pewarnaan spora tidak terlihat adanya spora pada bakteri.

Berdasarkan karakteristik yang diperoleh dari pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora, isolat yang diperoleh berbentuk batang dan bersifat Gram positif non-endospora. Bakteri yang berbentuk batang bersifat Gram positif non-endospora umumnya tergolong kepada bakteri asam laktat. Schlegel dan Schimidt (1994), menyatakan bahwa bakteri yang dikelompokkan sebagai bakteri asam laktat adalah bakteri-bakteri Gram positif, bukan pembentuk spora yang dapat tumbuh di lingkungan oksigen dan pada peragian karbohidrat (glukosa, laktosa) terutama membentuk asam laktat. Termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat ini adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Bifidobacterium*.

Potensi Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Beberapa Buah Durian

Nilai indeks masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 1. Isolat bakteri yang diperoleh dari beberapa durian ditemukan sama-sama memiliki potensi fermentatif, amilolitik, proteolitik, dan selulolitik dapat dilihat pada Gambar 2. Indeks Fermentatif tinggi memiliki nilai Indeks Proteolitik yang rendah, sedangkan Indeks Fermentatif rendah memiliki nilai Indeks Proteolitik yang tinggi. Tingginya nilai Indeks Fermentatif menandakan bakteri indigenous pada buah durian memiliki kemampuan yang baik dalam memanfaatkan glukosa sehingga isolat tersebut merupakan galur bakteri pemfermentasi. Gula yang dimanfaatkan oleh bakteri akan disederhanakan menjadi asam-asam organik yang akan bereaksi dengan CaCO_3 pada medium sehingga terbentuk daerah halo di sekitar koloni bakteri (Nurmiati dan Periadnadi, *unpublish*).

Nilai indeks proteolitik tertinggi adalah 5,57 pada isolat D3 (sampel durian ke-3) dan terendah terdapat pada isolat D2 (sampel durian ke-2) dengan nilai indeks 2,54. Penghitungan nilai indeks proteolitik bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler dalam mengubah kasein yang terdapat di dalam medium skim milk agar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pakpahan (2009), yang menyatakan bahwa kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalseinat. Molekul ini sangat besar dan tidak larut dalam air serta membentuk koloid. Suspensi ini berwarna putih dan dapat diamati secara langsung pada saat disuspensikan ke dalam media padat. Dengan adanya enzim proteolitik ekstraselular bakteri, kasein ini akan terhidrolisis menjadi peptida dan asam-asam amino yang larut dan ditandai dengan adanya zona lisis disekitar koloni bakteri.

Keberadaan bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease sangat dibutuhkan di dalam bidang industri. Pada umumnya bakteri ini berperan dalam industri detergen, pengolahan limbah,

makanan dan industri farmasi. Huang (2006) menyatakan bahwa protease merupakan enzim penting yang digunakan secara luas pada aplikasi industri melalui reaksi sintesis dan reaksi hidrolisis, hampir mencapai 65% dari total penjualan enzim di dunia.

Nilai Indeks Amilolitik tertinggi terdapat pada D2 (isolat sampel durian ke-2) yaitu 4,69. Berdasarkan nilai indeks yang diperoleh maka bakteri tersebut diduga memiliki kemampuan yang tinggi dalam menghasilkan enzim amilase ekstraseluler. Kemampuan ini ditandai dengan terbentuknya daerah halo di sekitar koloni bakteri setelah ditetesi larutan iodin. Bakteri yang mengasilkan enzim amilase ekstraseluler mampu merubah ikatan polimer pati menjadi ikatan yang lebih sederhana. Murphy (2000) pada Putri (2012), menyatakan bahwa enzim amilase mampu memecah ikatan polimer pati menjadi lebih pendek, oligosakarida atau molekul gula sederhana, sehingga uji iodin yang dilakukan menyebabkan terjadinya perubahan warna yang berbeda. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Putri (2012) yang menyatakan bahwa *strain* dengan kemampuan amilolitik akan menghidrolisis pati pada media di sekeliling tempat tumbuhnya dan dalam zona degradasi tidak terbentuk warna biru, yang merupakan dasar deteksi dan seleksi *strain* amilolitik. Zona bening akan tampak setelah beberapa saat ditambahkan larutan iodin dan kelebihan larutan iodin dibuang.

Bakteri dengan kemampuan amilolitik banyak dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Keberadaan bakteri amilolitik dalam proses fermentasi berperan pada fermentasi bahan yang berpati. Biasanya fermentasi dengan bantuan bakteri ini akan menghasilkan rasa asam pada produknya. Contohnya pada bakteri asam laktat amilolitik yang diperoleh Putri (2012) yang menyatakan bahwa perendaman kasava pada pembuatan growol melibatkan bakteri asam laktat dengan kemampuan amilolitik yang berbeda.

Nilai indeks selulolitik tertinggi dari isolat yang diperoleh adalah 4,04 yaitu pada D2 (isolat durian ke-2) dan nilai indeks terendah terdapat pada D4 (isolat

durian ke-4) dengan nilai indeks 3,06. Terbentuknya daerah halo disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri diduga memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim selulase ekstraseluler. Mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulase banyak dimanfaatkan dalam proses pengolahan limbah pertanian secara biologi. Maryandini (2009), menyatakan bahwa penanganan limbah pertanian secara biologi dapat dilakukan dengan menggunakan enzim misalnya selulase.

Berdasarkan nilai indeks yang diperoleh (Tabel 1), isolat bakteri indigenous pemfermentasi dari beberapa buah durian yang berbeda dapat dijadikan galur yang baik dalam menghasilkan enzim protease, selulase dan amilase tetapi tidak memiliki kemampuan dalam memanfaatkan lipid dan alkohol. Jamilah (2011) menyatakan bahwa isolat yang memiliki indeks proteolitik dan amilolitik tertinggi yaitu $\geq 2,5$ berpotensi sebagai produser enzim protease dan amilase. Akhdiya (2003) menyatakan isolat dengan indeks proteolitik ≥ 3 sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber gen protease termotabil maupun penghasil enzim itu sendiri

Kesimpulan

Pada buah durian yang matang terdapat bakteri indigenous pemfermentasi dan bakteri indigenous tidak pemfermentasi yang ditandai dengan terbentuk dan tidak terbentuknya daerah halo pada medium GTA modifikasi Bakteri Indigenous pemfermentasi memiliki karakteristik dengan sifat Gram positif, berbentuk basil, tidak memiliki endospora, motil dan bereaksi positif pada uji katalase. Potensi yang dimiliki beberapa isolat diantaranya potensi proteolitik, amilolitik dan selulolitik serta tidak memiliki kemampuan dalam menghidrolisis lemak dan Alkohol.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dr. Anthoni Agustien, Prof. Dr. Syamsuardi dan Dr. Nasril Nasir yang telah

memberikan masukan, saran dan kritikan selama penelitian berlangsung dan dalam proses penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah* 9 (2): 38-44.
- Bevilacqua, A.E and A.N, Califano. 1989. Determination of organic Acid in Dairy Product by High Performance Liquid Chromatography. *J. Food Sci* 56 (4): 1076-1077.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fatoni, A., Zufahair dan P. Lestari. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Natur Indonesia* 10 (2): 83-88.
- Huang, G., Ying T, Huo P & Jiang J. 2006. Purification and Characterization of A Protease from Thermophilic *Bacillus* strain HS08. *African. Biotechnol* 5: 2433-2438.
- Jamilah, I., A. Meryandini, I. Rusmana, A. Suwanto dan N. R. Mubarik. 2009. Activity Proteolytic and Amylolitic Enzymes From *Bacillus* spp. Isolated from Shrimp Ponds. *Journal Microbiology Indonesia* 3 (2): 67-71.
- Jamilah, I. 2011. *Penapisan Bacillus dan Karakterisasi Protease dan Amilase Ekstraseluler yang Dihasilkan untuk Degradasi Sisa Pakan Pada Budi Daya Udang*. [Tesis]. Jawa Barat. Institut Pertanian Bogor.
- Kouker, G and K. E. Jaeger. 1987. Specific and Sensitive Plate Assay for Bacteri Lipases. *Applied and Enviromental Microbiology* 53: 211-213.
- Labeda D. P. 1990. *Environmental Biotechnology. Isolation of Biotechnological Organisme From Nature*. Mc. Graw Hill Publishing Company. USA.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania dan H. Satria. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains* 13(1): 33-38.
- Pakpahan, R. 2009. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara*. [Tesis]. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Periadnadi. 2003. *Vorkommen und Stoffwechsellistungen von Bakterien der Gattungen Acetobacter und Gluconobacter Währen der Weinbereitung unter Berücksichtigung des Zucker_Säure_Stoffwechsels*. [Disertasi]. Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfrut aM.
- Putri, W. D. R., Haryadi., D. W. Marseno dan M. N. Cahyanto. 2012. Isolation and Characterization of Amylolytic Lactic Acid Bacteria during Growol Fermentation, an Indonesian Traditional Food. *Teknologi Pertanian* 13(1): 52-60.
- Rahmadani, S. Y. 2011. *Keberadaan dan Karakteristik Mikroflora Indigenous Pulp Tiga Varietas Kakao (Theobroma cacao, L.) Di Sumatera Barat*. [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- Schlegel, H.G. dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Ed. Ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Yuliana, N. 2005. Identifikasi Bakteri Bukan Penghasil Asam Laktat yang Berasosiasi dengan Tempoyak (Fermented Durian). *Mikrobiologi Indonesia* 10 (1): 25-28.
- Yuliana, N. 2007. Pengolahan Durian (*Durio zibethinus*) Fermentasi (Tempoyak). *Teknologi dan Industri Hasil Pertanian* 12 (2): 70-80.