



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL
FERMENTASI SPONTAN TEPUNG GAPLEK SEBAGAI
BAHAN BAKU MI LETHEK**

SKRIPSI

Oleh

Denny Devandya Noviantoro

NIM 141710101073

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL
FERMENTASI SPONTAN TEPUNG GAPLEK SEBAGAI
BAHAN BAKU MI LETHEK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Strata Satu Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

oleh

Denny Devandya Noviantoro

NIM 141710101073

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Ucapan syukur atas kuasa Allah SWT, limpahan kasih sayang serta anugerah kemudahan yang telah diberikan kepada saya, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua, adik dan orang tercinta serta teman-teman terdekat saya. Terimakasih atas doa, dukungan dan motivasi yang selalu diberikan kepada saya selama ini,
2. Para pendidik yang telah mendidik, membimbing saya dan memotivasi saya dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
3. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

Dunia ini ibarat bayangan. Kalau kau berusaha menangkapnya, ia akan lari. Tapi kalau kau membelakanginya, ia tak punya pilihan selain mengikutimu. *)



*) Ibnu Qayyim Al Jauziyyah

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Denny Devandya Noviantoro

NIM : 141710101073

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya skripsi yang berjudul “**Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Tepung Gaplek sebagai Bahan Baku Mi Lethek**”, adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan kepada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Maret 2019

Yang menyatakan,

Denny Devandya Noviantoro

141710101073

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL
FERMENTASI SPONTAN TEPUNG GAPLEK SEBAGAI
BAHAN BAKU MI LETHEK**

Oleh:

Denny Devandya Noviantoro

NIM 141710101073

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Ir. Achmad Subagio, M. Agr., Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Terpilih Asal Fermentasi Spontan Gapek pada Pembuatan Mi Lethek**” karya Denny Devandya Noviantoro (NIM. 141710101073) telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 2 April 2019

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D
NIP. 196905171992011001

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si
NIP. 197904102003122004

Tim Penguji

Ketua

Anggota

Ir. Giyanto, M.Sc
NIP. 196607181993031013

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si
NIP. 196307011989031004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Tepung Gaplek sebagai Bahan Baku Mi Lethek; Denny Devandya Noviantoro; 141710101073; 2019: 36 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Mi lethekek dibuat dari campuran tapioka dan tepung gaplek yang terfermentasi. Mi ini tidak mengandung tepung gandum sehingga bebas gluten. Bentuk mi lethekek kering menyerupai bihun dan berwarna kusam. Fermentasi tepung gaplek mengakibatkan perubahan struktur pati gaplek sehingga memiliki tekstur elastis dan kenyal. Perubahan sifat pati gaplek tersebut diakibatkan oleh aktivitas mikroba selama fermentasi spontan. Indigenus mikroba pada fermentasi spontan media tepung gaplek belum teridentifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat (BAL) yang berperan dalam fermentasi spontan tepung gaplek.

Penelitian ini mengeksplorasi profil mikroba yang terdapat pada fermentasi tepung gaplek selama 12, 24, 36, dan 48 jam pada perendaman. BAL diisolasi pada media MRSA yang mengandung 1% CaCO_3 diikuti pengamatan dengan sifat morfologi dan fisiologi. Isolat strain BAL diidentifikasi secara morfologi dibedakan berdasarkan tipe sel dan bentuk koloni. Perilaku fisiologis isolat BAL dikarakterisasi dengan suhu tipikal tumbuh, aktivitas katalase dan profil fermentasi menggunakan uji kit API 50CHL.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dalam fermentasi tepung gaplek bahan dari pembuatan mi Lethek tumbuh sebanyak 8 (delapan) jenis BAL, yaitu SA^{24} , $\text{SA}_3(2)^{36}$, $\text{SA}_3(4)^{36}$, $\text{SA}_3(4)^{36}$, LA_1^{36} , LA_2^{36} , LA_3^{36} , LA_4^{36} , dan LA_5^{36} . Identifikasi bakteri tersebut dilakukan berdasarkan zona bening yang terbentuk. Bakteri tersebut termasuk gram positif, berbentuk batang, dan tipikal koloni pendek bulat ataupun lonjong, tumbuh dengan optimum pada suhu 37°C dan termasuk katalase negatif. Identifikasi dengan kit API 50CHL isolat $\text{SA}_3(2)^{36}$ adalah

teridentifikasi sebagai strain *Lactobacillus plantarum* 1 dengan signifikan takson 99,9% yang termasuk *excellent identification*.



SUMMARY

Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Cultured from Spontaneous Fermentation of Cassava Flour as Raw Material Lethek Noodle;

Denny Devandya Noviantoro; 141710101073; 2019: 26 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, Jember University.

Lethek noodle made from tapioka and fermented cassava flour. The noodle is no contain wheat flour so it is free gluten. The shape of drying lethek noodle is like vermicelli noodle and dulk colour. Fermentation of cassava flour affects the change of starch properties like more elastic and chewy texture. These changes were cause by microbial activity during spontaneous fermentation. The indigenus microbe during spontaneous fermentation has not been identified. This research aims to isolate and identify of lactic acid bacteria (LAB) during spontaneous fermentation of cassava flour.

This research explored microbial profile in cassava flour fermentation during 12, 24, 36, and 48 hours of soaking process. LAB was isolated on MRSA medium contain 1% CaCO₃ followed by the phenotypic identification of the isolates based on the morphological and physiological properties. The LAB strains isolates were identifiend by morphologically distinguish with the type of cell and colony form. The physiological behavior of the LAB isolates were characterize by their typical grow temperature, its catalase activity and its fermentation profile using API 50CHL kit test.

The results of this research showed eight isolates was LAB. Those bacteria were successfully isolated based on the clear zone formed. Those bacteria were gram-positive, rod shaped, short round or oval colonies typical, growth optimally at 37°C and catalase-negative. Based on the results of the API 50 CHL kit in SA₃(2)³⁶ was identify as *Lactobacillus plantarum* 1 strain with significant taxon value 99,9% which belong to excellent identification.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Terpilih Asal Fermentasi Spontan Gaplek pada Pembuatan Mi Lethek” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata satu (S1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh sebab itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Prof. Ir. Achmad Subagio, M. Agr., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Pembimbing Utama, serta pemberi proyek skripsi ini.
4. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang selalu membimbing serta memberikan ilmu demi kelancaran studi.
5. Ir. Giyarto, M.Sc dan Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si. selaku Dosen Penguji Skripsi yang telah memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan skripsi yang saya susun.
6. Orang tua saya, Hery Bantoro Yuwono dan Agustin Ernawati, adik saya Faldy Devalen Fehabtoro yang selalu mendoakan atas kelancaran saya dalam menyelesaikan studi.
7. Seluruh dosen, karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
8. Oriza Krisnata Wiwata, M. Dwi Nurcahyo, Angga Setiyawan, Alan Pria Agung, Pungky Wildan Zein, Hamid Tri Majudin, Muhammad Subhan Afandi sebagai

anggota grup “Semangat Mencari Jodoh” yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada saya untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

9. Tim riset mi letheq yang berjuang bersama-sama mengerjakan proyek.
10. Teman - teman THP 2014, khususnya THP A 2014 yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.
11. Keluarga “UK-PSM Symphony Choir” yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama pelaksanaan penelitian serta pengalaman di bidang keorganisasian
12. Keluarga “HIMAGIHASTA” yang telah berbagi ilmu dan pengalaman di bidang keorganisasian.
13. Seluruh pihak yang turut membantu dalam penyusunan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan dan belum dapat dikatakan sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan bagi sempurnanya laporan ini.

Jember, 28 Maret 2019

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tepung Gaplek.....	4
2.2 Fermentasi Tepung Gaplek pada Pembuatan Mie Lethek	5
2.3 Mi Lethek.....	6
2.4 Bakteri Asam Laktat	7
2.5 Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat	8
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	11
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	11

3.3.2 Tahapan Penelitian.....	11
3.4 Parameter Pengamatan.....	13
3.5 Prosedur Analisis	13
3.5.1 Identifikasi Makroskopik.....	13
3.5.2 Pewarnaan Gram.....	14
3.5.3 Uji Katalase.....	14
3.5.4 Pertumbuhan pada Suhu yang Berbeda	14
3.5.5 Identifikasi Fenotip Menggunakan API 50 CHL (API-Biomerieux).....	15
3.6 Analisa Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Perendaman Tepung Gaplek	16
4.2 Isolat Bakteri Asam Laktat Indigenus Air Rendaman Tepung Gaplek pada Proses Pembuatan Mi Lethek.....	17
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN-LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

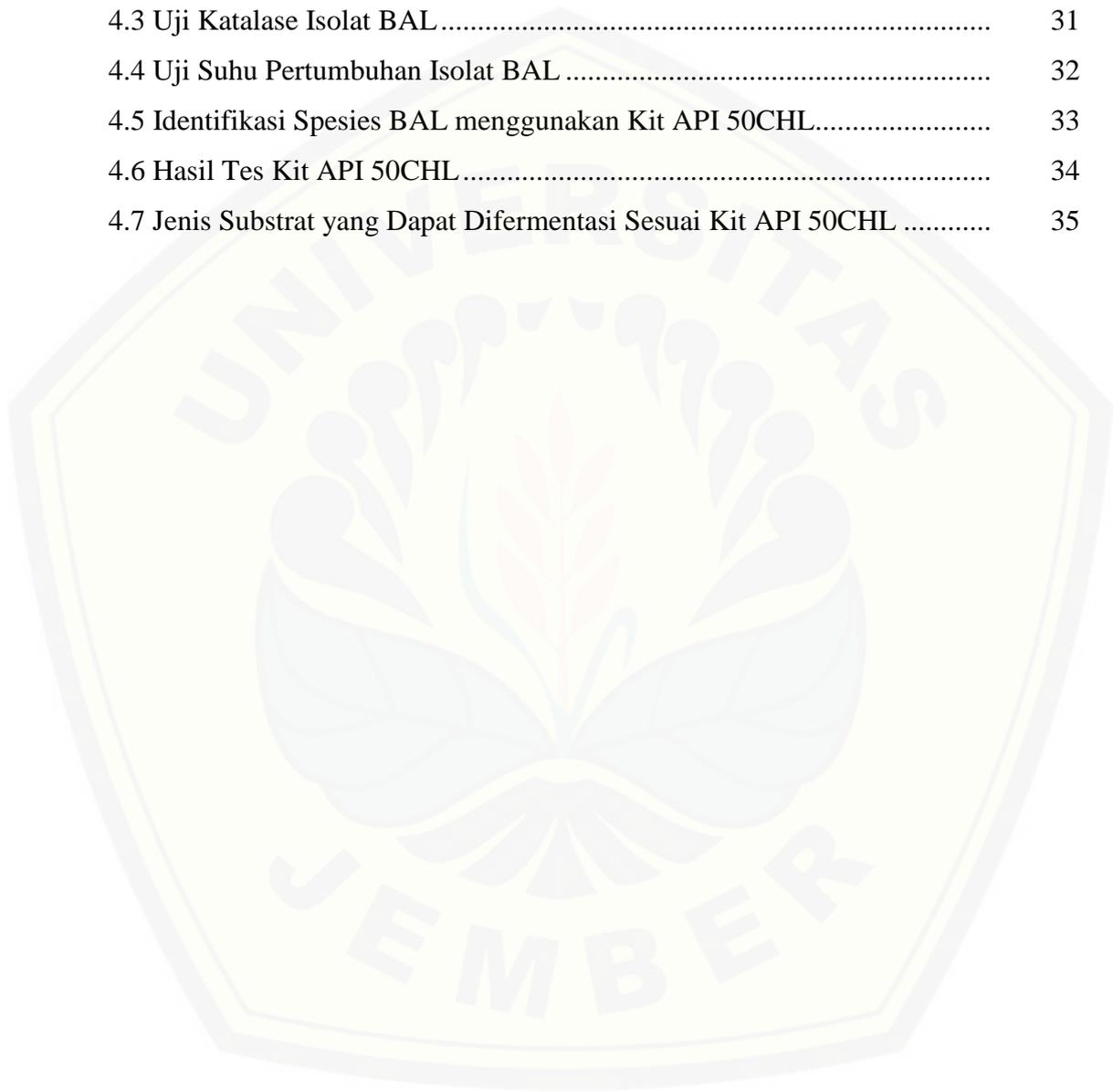
	Halaman
2.1 Kandungan gizi pada gaplek per 100 g	10
4.1 Karakteristik morfologi dan fisiologi bakteri asam laktat dari air rendaman tepung gaplek pada proses pembuatan mi letek	18
4.2 Sumber karbon yang dapat difermentasi oleh isolat BAL SA ²⁴ , LA ₂ ³⁶ , dan SA ₃₍₂₎ ³⁶ pada kit API 50CHL	25
4.3 Sumber karbon yang tidak dapat difermentasi oleh isolat BAL SA ²⁴ , LA ₂ ³⁶ , dan SA ₃₍₂₎ ³⁶ pada kit API 50CHL.....	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
3.1 Diagram alir rancangan penelitian isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari air rendaman tepung gaplek pada proses pembuatan Mi Letek di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY	13
4.1 Perendaman tepung gaplek selama 36 jam di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY	17
4.2 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat SA ²⁴	20
4.3 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat SA ₃ (1) ³⁶	20
4.4 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat SA ₃ (2) ³⁶	21
4.5 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat SA ₃ (4) ³⁶	21
4.6 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat LA ₁ ³⁶	22
4.7 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat LA ₂ ³⁶	22
4.8 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat LA ₃ ³⁶	23
4.9 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat LA ₄ ³⁶	23
4.10 Pewarnaan gram dan pengamatan sel isolat LA ₁ ³⁶	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
4.1 Proses Isolasi Bakteri Asam Laktat Air Rendaman Gaplek	31
4.2 Pemurnian Bakteri Asam Laktat Indigenus Air Rendaman Gaplek	31
4.3 Uji Katalase Isolat BAL	31
4.4 Uji Suhu Pertumbuhan Isolat BAL	32
4.5 Identifikasi Spesies BAL menggunakan Kit API 50CHL.....	33
4.6 Hasil Tes Kit API 50CHL	34
4.7 Jenis Substrat yang Dapat Difermentasi Sesuai Kit API 50CHL	35



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mi merupakan makanan yang sudah dikenal oleh sebagian besar masyarakat Indonesia. Menurut hasil asosiasi mi instan dunia yang berbasis di Jepang, Indonesia adalah konsumen terbesar kedua yaitu sekitar 14,1 miliar bungkus per tahun (Syelvia, 2013). Hal ini karena mulai dari penyajian sampai dikonsumsi sangat mudah dan cepat. Mi berdasarkan bahan bakunya terbagi menjadi dua macam, yaitu mi yang terbuat dengan bahan dasar gluten (*gluten based noodle*) dan mi yang terbuat dari bahan dasar pati (*starch based noodle*). Salah satu mie berbahan dasar pati adalah mie mojang. (Diniyah *et al.*, 2017)

Mi letheek merupakan mi yang terbuat dari campuran tapioka dan tepung gapek yang terfermentasi. Bentuk dari mi letheek berupa mi kering yang menyerupai mi bihun, namun berwarna kusam sehingga diberi nama “Lethek”. Mi tersebut berasal dari Bantul, DIY yang diproduksi secara turun temurun sejak tahun 1940-an dalam skala industri rumah tangga (Sari *et al.*, 2013). Berdasarkan bahan baku yang digunakan, mi letheek termasuk mi yang terbuat dari pati (*starch based noodle*).

Pembuatan mi letheek berbeda dengan pembuatan mi berbahan dasar gluten (*gluten based noodle*). Mi letheek tetap memiliki tekstur yang elastis dan kenyal. Gluten pada bahan terigu berperan penting dalam pembentukan tekstur kenyal dan sebagai bahan pengikat. Bahan pengikat mampu memerangkap air sehingga membentuk tekstur yang elastis dan kenyal (Saha dan Bhattacharya, 2010). Pada proses pembuatan Mi Lethek diawali dengan perendaman tepung gapek sehingga terjadi fermentasi secara spontan. Tepung hasil fermentasi dicampur dengan bahan pengikat tepung tapioka. Adonan mi digiling dan dilakukan pemadatan serta pemotongan dengan panjang 20 cm, lebar 20 cm, dan ketebalan 13 cm, kemudian dilakukan pengukusan adonan. Adonan hasil pengukusan digiling kembali, dicetak dan diurai dengan cara disiram dengan air. Proses terakhir pengeringan mi dengan bantuan sinar matahari dan dilanjutkan dengan pengemasan. (Sari *et al.*, 2013)

Tepung gablek pada proses fermentasi spontan pembuatan mi letheak dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh bakteri asam laktat. Beberapa bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari beberapa makanan fermentasi di Indonesia adalah *L. manihotivorans*, *B. licheniformis*, *B. brevis*, and *L. fermentum* dari gatot (Astriani *et al.*, 2018) dan *L. salivarius* dan *L. fructivorans* dari fermentasi spontan pisang var Agung Semeru (Nurhayati *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian Sari, *et al.*, (2013), bakteri asam laktat yang tumbuh selama fermentasi pada air rendaman tepung gablek tahap 1 dalam pembuatan mi letheak adalah *Lactobacillus sp.*, *Pediococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, dan *Leuconostoc sp.*

Mi letheak tidak menggunakan terigu, sehingga sangat baik dikonsumsi untuk penderita diabetes, *autism*, *celiac disease* untuk menghindari konsumsi gluten (Sabbatini *et al.* 2014). Mi letheak memiliki keistimewaan tidak mudah putus dan tidak lengket. Keistimewaan tersebut terjadi akibat adanya perubahan struktur pati tepung gablek selama fermentasi secara spontan. Bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan memanfaatkan pati sebagai substratnya dikenal sebagai bakteri asam laktat amilolitik. Bakteri tersebut menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi hidrolisat pati secara langsung menjadi asam laktat. Beberapa bakteri asam laktat telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. amilolyticus*, *Leuconostoc cellobiosus*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus bovis*, dan *Streptococcus macedonicus* (Reddy *et al.* 2008).

Jenis bakteri asam laktat indigenus selama fermentasi rendaman tepung gablek belum diketahui. Indigenus bakteri asam laktat diharapkan dapat meningkatkan manfaatnya selama fermentasi spontan di pabrik mi letheak. Oleh karena itu, penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat indigenus fermentasi tepung gablek penting dilakukan untuk pengembangan mi letheak.

1.2 Rumusan Masalah

Mi lethekek memiliki keistimewaan tidak mudah putus dan lengket meskipun tidak menggunakan bahan baku terigu dan diproduksi secara tradisional. Keistimewaan Mi Lethek didasari dengan adanya perubahan struktur pati pada bahan dasar akibat terfermentasinya tepung gaplek secara spontan. Bakteri asam laktat indigenus dari isolasi air rendaman tepung gaplek bahan pembuatan Mi Lethek belum diketahui. Bakteri indigenus ini dapat dimanfaatkan untuk pembuatan mi dengan bahan dasar pati singkong lainnya. Sehingga perlu adanya isolasi dan identifikasi indigenus pada proses fermentasi tersebut untuk meningkatkan kualitas Mi Lethek.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi bakteri asam laktat yang berperan dalam fermentasi spontan pada perendaman tepung gaplek bahan pembuatan Mi Lethek.
2. Mengidentifikasi bakteri asam laktat hasil isolasi dari fermentasi spontan perendaman tepung gaplek bahan pembuatan Mi Lethek.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya adalah mendapatkan isolat teridentifikasi hasil isolasi bakteri asam laktat yang terlibat pada fermentasi tepung gaplek bahan baku mi lethekek. Bakteri asam laktat yang berhasil diidentifikasi dapat membantu pengembangan database mikroorganisme indigenus Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tepung Gaplek

Gaplek merupakan bahan komoditi pangan yang banyak dijumpai di daerah pedesaan dengan harga relatif murah. Gaplek banyak dikonsumsi dalam bentuk makanan dan dapat dikonsumsi setiap hari dan biasanya gaplek hanya direbus atau digoreng saja, gaplek juga dapat diolah menjadi gethuk, ceriping (Jawa), tiwul, gatot, slondok, dan potel. Gaplek juga digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan dan industri obat – obatan (Suprapti, 2002).

Gaplek irisan (*slice*) adalah singkong kupasan tipis–tipis. Pengirisan tersebut dimaksudkan untuk mempercepat proses pengeringan sinar matahari. Hasil irisan dijemur dengan menggunakan nampan yang terbuat dari anyaman bambu sampai kadar air kurang lebih 14% (selama 1 atau 2 hari). Setelah gaplek kering, kemudian gaplek disimpan pada ruangan yang bersih dari kotoran (*higienis*) dan ditambahkan kapur serta ditutupi dengan tikar atau karung goni untuk memperkecil tingkat pertumbuhan jamur yang menyebabkan keracunan. Penyimpanan gaplek dapat dilakukan setelah kadar air tidak lebih dari 14%. Setelah disimpan, kemudian gaplek dijemur kembali dibawah sinar matahari selama 1 hari (Esti dan Prihatman, 2000).

Gaplek dapat dimanfaatkan secara luas dengan cara diversifikasi pangan, salah satu caranya adalah mengolah gaplek menjadi tepung gaplek dan diolah kembali menjadi produk baru. Tepung gaplek merupakan bahan baku setengah jadi yang mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku industri makanan.

Tepung gaplek mempunyai kegunaan yang cukup banyak dalam pengolahan makanan seperti halnya tepung terigu, tepung gaplek dapat digunakan pula sebagai bahan utama ataupun bahan campuran dalam pembuatan roti, kue – kue, mie dan makanan bayi ataupun produk olahan makanan lain. Pada penelitian Mardwiana (2013), tepung gaplek dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuaan krasikan.

Berdasarkan kandungan gizi tepung gaplek, kelebihan dari tepung gaplek yang utama adalah kaya akan karbohidrat (DepKes RI, 2002). Karbohidrat ini nantinya akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk sistem metabolisme serta menghasilkan enzim untuk mengubah struktur pati yang ada pada tepung gaplek. Berikut merupakan tabel kandungan gizi pada gaplek:

Tabel 2.1 Kandungan Gizi pada Tepung Gaplek per 100 g

Komposisi	Jumlah
Protein (g)	1,10
Lemak(g)	0,50
Karbohidrat (g)	88,20
Fosfor (mg)	125,00
Zat besi (mg)	1,00
Vit. A (SI)	-
Vit B1 (mg)	0,04
Vit C (mg)	-
Air (g)	9,10

Sumber: Direktorat Gizi, Depkes RI (2002)

2.2 Fermentasi Tepung Gaplek pada Pembuatan Mie Lethek

Fermentasi tepung gaplek dilakukan secara spontan sebagai bahan baku pembuatan mie Lethek. Tahap awal pembuatan tepung gaplek adalah gaplek yang berbentuk *chips* digiling hingga menjadi tepung dengan menggunakan mesin penggiling. Tepung gaplek hasil gilingan difermentasi ke dalam bak yang berukuran 2 x 1 x 1 m (p x l x t) selama kurang lebih 3 hari. Jumlah tepung gaplek yang difermentasi tidak ditetapkan, hanya diukur sampai setengah dari ukuran bak. Setelah bak diisi tepung kemudian ditambahkan air secukupnya. Warna air dari bening berubah menjadi merah yang digunakan untuk fermentasi menjadi indikator saat pengantiannya (sekitar 48 jam). Penghentian fermentasi dilakukan apabila air yang digunakan dalam fermentasi sudah tidak berwarna merah. Hal tersebut menandakan kandungan HCN pada tepung gaplek larut dalam air, maka air diganti dengan yang baru. Menurut Suprapti Lies (2002), asam sianida dalam singkong maupun gaplek dapat dihilangkan dengan cara perendaman dan pencucian gaplek dalam air. Penghentian fermentasi dilakukan apabila air yang digunakan dalam fermentasi sudah tidak berwarna merah.

Fermentasi tepung gablek yang dilakukan secara spontan bertujuan untuk mengubah komposisi struktur pati tepung gablek agar dapat digunakan sebagai bahan pembuatan mie. Bakteri asam laktat memecah pati menjadi gula sederhana seperti glukosa. Granula pati yang awalnya memiliki ukuran besar, perlahan akan menjadi kecil dan memiliki bentuk tidak seragam atau seragam. Perubahan ini bergantung dengan bakteri asam laktat yang tumbuh. Menurut Reddy *et al.* (2008) bakteri asam laktat yang dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati adalah *Lactobacillus plantarum*. Pertumbuhan bakteri asam laktat dapat menghasilkan mi dari tepung gablek terfermentasi memiliki keistimewaan tidak mudah putus dan lengket.

2.3 Mi Lethek

Mi letheck merupakan mi yang terbuat dari campuran tapioka dan tepung gablek yang terfermentasi. Bentuk dari mi letheck berupa mi kering yang menyerupai mi bihun, namun berwarna kusam sehingga diberi nama “Lethek”. Mi tersebut berasal dari Bantul, DIY yang diproduksi secara turun temurun sejak tahun 1940-an dengan skala industri rumah tangga (Sari *et al.* 2013). Mi ini memiliki keistimewaan yaitu tidak mudah putus, tidak lengket, memiliki tekstur yang lebih kenyal.

Proses pembuatan mi letheck berbeda dari pembuatan mi umumnya. Proses tersebut diawali dengan perendaman tepung gablek sehingga terjadi fermentasi secara spontan. Perendaman tersebut membutuhkan waktu selama 2-3 hari. Proses fermentasi ini bertujuan untuk merubah struktur pati sehingga mi tidak mudah putus, tidak lengket, dan memiliki tekstur yang lebih kenyal. Bakteri yang berperan dalam proses fermentasi yaitu bakteri asam laktat. Dalam penelitian Sari., dkk. (2013), bakteri asam laktat yang tumbuh pada proses fermentasi tepung gablek yaitu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, dan *Leuconostoc*. Tepung hasil fermentasi dicampur dengan tapioka dan digiling menggunakan cara tradisional yaitu dengan bantuan tenaga sapi. Adonan mi dipadatkan serta pemotongan dengan panjang 20 cm, lebar 20, dan ketebalan 13 cm. Adonan yang sudah padat dilanjutkan ke proses pengukusan adonan. Adonan hasil pengukusan digiling

kembali, dicetak dan diurai dengan cara memasukkan mi yang sudah dicetak ke air. Proses terakhir adalah mi dikeringkan dengan bantuan sinar matahari dan kemudian dikemas.

2.4 Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri probiotik bersifat non patogenik, kelompok bakteri gram positif dan bersifat *anaerob* fakultatif (Khalid, 2011). BAL berbentuk batang atau kokus dan tidak memiliki *sitokrom*. BAL tidak membentuk spora dalam pertumbuhannya dan memiliki suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$ (Nasution, 2012). Bakteri Asam laktat (BAL) termasuk dalam kelompok bakteri gram positif, memiliki sel berbentuk kokus, berbentuk rantai, tidak berspora, dapat tumbuh dengan kondisi anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil, tidak dapat bergerak dan termasuk dalam katalase negatif yang dapat memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam laktat (Ray, 2004). Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* ciri koloni BAL memiliki ukuran 2-5mm, cembung, dan tanpa pigmen. BAL tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat, oksidasi negatif, motilitas negatif karena kemampuan biosintesisnya terbatas dan memiliki kemampuan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat (Carr *et al.* 2002). Setiap spesies BAL hanya mampu memfermentasi karbohidrat dengan jenis tertentu namun tidak dapat memfermentasi karbohidrat jenis lain. Salah satu contohnya adalah *L. casei* dapat memfermentasi glukosa, manosa, manitol, fruktosa, maltosa, dan sukrosa namun tidak dapat memfermentasi arabinosa. (Vos *et al.*, 2009).

Kondisi pH optimum BAL adalah sekitar 4-5 sehingga dapat berkompetitif dengan bakteri patogen yang memiliki pH optimum 7,2 – 7,6 (Wibowo, 2012). Ada beberapa macam BAL yang terbagi menjadi delapan genus antara lain: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, dan *Corinobacterium*.

Bakteri Asam Laktat merupakan jenis bakteri yang dapat merubah karbohidrat menjadi asam laktat (Korhonen, 2010). Bakteri Asam Laktat juga dapat menghasilkan diasetil, karbondioksida dan asetaldehid (Usmiati, 2012). Surono

(2004) menambahkan bahwa senyawa lain yang dapat dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat diantaranya adalah asam organik, berbagai jenis vitamin dan asam folat. Beberapa jenis bakteri asam laktat yang dapat memproduksi bakteriosin adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* yang terdapat didalam saluran pencernaan (Usmiati, 2012). Bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan memanfaatkan pati sebagai substrat dikenal sebagai bakteri asam laktat amilolitik. Aktivitas bakteri asam laktat dalam memfermentasi bahan berpati berperan terhadap perubahan karakteristik produk, untuk memproduksi asam laktat, enzim spesifik, dan senyawa aromatik. Fermentasi menyebabkan terjadinya perubahan karakteristik pati yang disebabkan oleh enzim dan asam yang dikeluarkan oleh mikroorganisme yang terlibat.

2.5 Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat

BAL memiliki berbagai jenis *strain* bakteri dengan suhu optimum dan maksimum pertumbuhan yang beragam. Beberapa suhu optimum dan maksimum dari berbagai jenis *strain* bakteri asam laktat antara lain (Surono, 2004):

- a) Bakteri psikotropik yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu 5°C atau dibawahnya, seperti genus *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* fakultatif heterofermentif yaitu *Lactobacillus sake*.
- b) Bakteri Mesofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 25°C dan suhu maksimumnya 37°C – 40°C. Contoh bakteri mesofilik adalah strain *Lactococci* dan *Leuconostoc*.
- c) Bakteri Termofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 37°C – 45°C dan suhu maksimum 45°C - 52°C. Contoh bakteri mesofilik adalah *Streptococcus thermophilus* dan homofermentif *Lactobacilli*.

Berdasarkan tipe fermentasi BAL terbagi menjadi dua yaitu:

- a) Kelompok homofermentatif yaitu BAL yang memanfaatkan sumber karbon untuk menghasilkan asam laktat. Contoh kelompok homofermentatif adalah *Lactobacillus acidophilus* (Nurdyansyah dan Umar, 2018).

- b) Kelompok heterofermentatif yaitu BAL yang fermentasinya disamping menghasilkan asam laktat juga menghasilkan senyawa lain seperti CO₂, etanol, asetaldehida, diasetil, serta senyawa lain. Contoh kelompok heterofermentatif adalah *Lactobacillus rhamnosus* (Nengah *et al.* 2008)

Berdasarkan kemampuan memanfaatkan pati sebagai substratnya, beberapa jenis bakteri asam laktat dikenal sebagai bakteri asam laktat amilolitik. Bakteri tersebut menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Beberapa bakteri asam laktat telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. amilolyticus*, *Leuconostoc cellobiosus*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus bovis*, dan *Streptococcus macedonicus* (Reddy *et al.* 2008).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Isolasi bakteri asam laktat dari air rendaman tepung gaplek dilakukan di Pabrik Mi Lethok Bendo, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY pada bulan Mei 2018. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian (MPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, dan *Center of Development of Advance Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember, Penelitian ini dimulai pada bulan Mei 2018 hingga September 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat utama yang digunakan meliputi neraca analitik (Precisa, ES 2200 C), otoklaf (*Tomy autoclave High Pressure Steam Sterilizer* ES-315), alat pengering (oven) (*Air Concept Froilabo*), *laminar airflow*, mikropipet, inkubator (Heraeus instrument D-63450 Hanau tipe B 6200, USA). Alat untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat meliputi kaca preparat, kit API 50 CHL, mikroskop binokuler (XSZ-107), program APIWEB™, cawan petri (Steriplan), tabung reaksi (Pyrex), pipet tetes, blue tip dan pipet mikro 1 ml.

Bahan utama yang digunakan adalah air rendaman tepung gaplek pada proses pembuatan mi lethok yang diisolasi di Pabrik Mi Lethok Bendo, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY, Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis mikrobiologis yaitu gliserol, Kit API (*Analytical Profile Index*) 50 CHL yang diperoleh dari PT Era Mitra Perdana, parafin cair, akuades, CaCO₃ 1%, H₂O₂ 3%, MRSB (Merck), MRSA (Merck), Lactose Broth (Oxoid), NaCl (Merck), akuades, larutan Iod (I₂) 1 N, NaOH 1 N, alkohol 95%. Alkohol 70%, Safranin, Kristal violet, Pati *Starch*, mordant, spiritus dan aluminium foil.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi yaitu dengan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat air rendaman tepung gaplek yang diambil di Pabrik Mi Lethak Bendo, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY. Pengisolasian dilakukan pada perendaman tepung gaplek pada jam ke-12, 24, 36, dan 48 jam. Data hasil penelitian disajikan secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing genus bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari air rendaman tepung gaplek.

3.3.2 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tiga tahap. Tahapan tersebut antara lain tahap persiapan media, tahap isolasi, pemurnian bakteri asam laktat, dan tahap identifikasi spesies bakteri asam laktat.

a. Tahap Persiapan Media

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan untuk mengetahui jenis BAL yang tumbuh selama fermentasi terendamnya tepung gaplek. Sebelum melakukan isolasi BAL maka perlu dilakukan penyiapan media. Media yang digunakan adalah MRSB dan LB. Pembuatan Media MRSB yaitu dengan melarutkan dan memanaskan 13,75 gram MRSB ke dalam akuades sebanyak 250 ml sampai homogen. Kemudian mensterilkan media pada suhu 121°C selama 15 menit. Pembuatan media LB dengan melarutkan dan memanaskan 1,3 gram ke dalam akuades sebanyak 50 ml sampai homogen. Media tersebut disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Tahap Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Isolasi BAL dari rendaman tepung gaplek diawali dengan mencuplik 1 ml air rendaman pada perendaman tepung gaplek pada jam ke-12, 24, 36, dan 48 di Desa Trimurti secara aseptis ke masing-masing media MRS Broth 5 ml dan LB 5 ml. Media tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari.

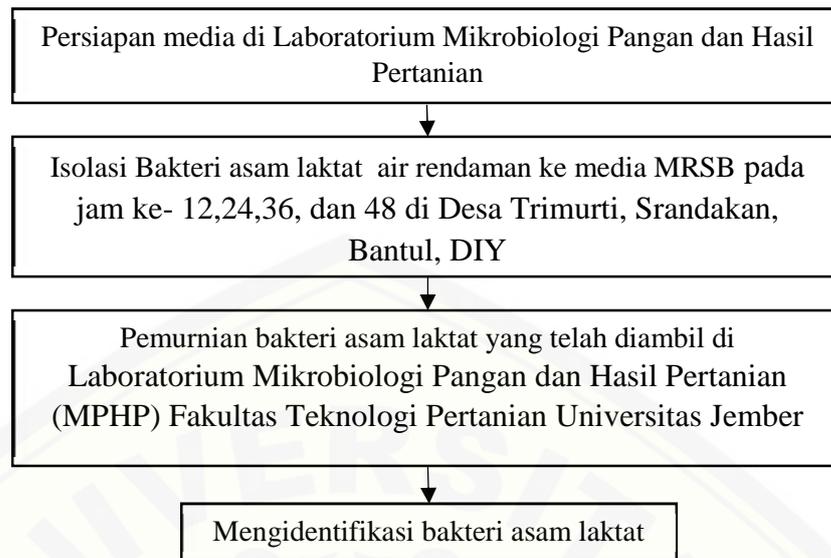
c. Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Isolat hasil isolasi diinokulasi di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian (MPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penginokulasian isolat dilakukan dengan cara mengencerkannya hingga pengenceran 10^{-3} kemudian

diinokulasi pada media MRSA yang ditambah CaCO_3 dan dilakukan penginkubasian pada suhu 37°C selama dua hari. Penginokulasian isolat dilakukan dengan cara mengencerkannya hingga pengenceran 10^{-3} kemudian diinokulasi pada media MRSA yang ditambah CaCO_3 dan dilakukan penginkubasian pada suhu 37°C selama dua hari. Koloni tunggal dimurnikan dengan goresan kuadran. Koloni tersebut dikelompokkan berdasarkan tipe elevansi (bentuk koloni dan sudut penonjolan pada permukaan agar), warna koloni, sifat gram positif, katalase negatif, bentuk morfologi (kokus atau batang) dan memiliki zona bening. Isolat yang sudah murni diinokulasikan dalam media MRSB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian disimpan dalam pendingin.

d. Tahap Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat

Sediaan dipilih berdasarkan tumbuh secara optimal pada suhu 27°C dan ukuran koloni. Sediaan yang ingin diidentifikasi dengan kit API diinokulasikan pada media MRSA metode gores dan menginkubasi isolat tersebut pada suhu 37°C selama 24 jam sebagai persiapan kultur untuk diuji dengan kit API. Kultur yang tumbuh diambil dan dimasukkan ke dalam 10 ml medium suspensi API (*Analytical Profile Index*). Lubang pada tatakan plastik kit diberi akuades steril ($\pm 1\text{ml}$), selanjutnya 1ml kultur diteteskan pada 50 microtube API 50CHL yang berisi karbohidrat uji dan pada bagian atas ditutup dengan 1ml parafin cair steril. Kit API 50CHL diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Terjadinya perubahan warna dari biru menjadi hijau hingga kuning atau hitam dinyatakan sebagai uji positif. Diagram pelaksanaan penelitian idenitifikasi bakteri asam laktat air rendaman tepung gaplek di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Tahap penelitian isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari air rendaman tepung galek pada proses pembuatan mi letek di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu parameter morfologi dan fisiologi. Identifikasi fenotip berdasarkan morfologi antara lain bentuk sel dan pewarnaan gram (Ammor *et al.*, 2005). Identifikasi fisiologi antara lain uji suhu pertumbuhan, uji katalase (Bell *et al.*, 2005) dan uji pola fermentasi menggunakan Kit API 50 CHL (API-Biomerieux).

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Identifikasi Makroskopik

Koloni BAL yang sudah tumbuh dilakukan pengamatan secara makroskopik. Setelah 48 jam, dilakukan pengamatan morfologi koloni berdasarkan bentuk, tepian, elevasi, dan warna. Penentuan koloni bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan perubahan warna media menjadi kuning muda (atau putih susu) di sekitar lokasi tumbuh koloni bakteri. Koloni yang memiliki zona bening, berbentuk batang, cembung, dan media yang berubah warna menjadi kuning muda dimurnikan dengan metode *quadrant streak* pada media MRSA dan menginkubasi kembali selama 48 jam pada suhu ruang. Subkultur koloni tunggal yang diperoleh diinokulasi ke media MRSA miring sebagai stok isolat untuk uji selanjutnya (Ammor *et al.*, 2005).

3.5.2 Pewarnaan Gram

Tahapan pewarnaan gram dilakukan dengan cara mengambil sedikit isolat bakteri secara aseptik menggunakan jarum ose. Isolat tersebut dicampurkan dengan 2 tetes aquades steril di atas kaca preparat dan dikeringkan menggunakan api bunsen. Pewarnaan dilakukan dengan cara meneteskan larutan kristal violet ke isolat yang sudah menempel di kaca preparat dan didiamkan selama 1 menit, membilas lalu meneteskan dengan larutan iodin dan didiamkan selama 3 menit. Isolat tersebut didiamkan selama 1 menit dan ditetesi dengan 2 tetes larutan alkohol 96%. Isolat yang sudah ditetesi alkohol ditetesi dengan larutan safranin dan membiarkannya menyerap selama 1 menit, kemudian membilas dan dikeringkan. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000 x untuk mengamati bentuk sel dan warnanya. Jika bakteri berwarna merah keunguan menandakan bakteri tersebut termasuk golongan positif dan jika berwarna merah muda termasuk golongan gram negatif (Beel *et al.*, 2005).

3.5.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki enzim katalase untuk memproduksi efek toksik H_2O_2 . Uji katalase dilakukan dengan cara menyemprot gelas obyek dengan etanol 70% hingga tidak terbentuk lapisan minyak. Biakan murni isolat BAL yang berumur 24 jam diambil sedikit secara aseptis menggunakan jarum ose dan mensuspensi dengan aquades steril sebanyak 2 ose. Hasil suspensi ditetesi sebanyak 100 μ L larutan H_2O_2 3% dan mengamati pembentukan gelembung udara yang terjadi pada koloni dan sekitarnya. Terbentuknya gelembung menandai bahwa bakteri tersebut bersifat aerobik (Bell *et al.*, 2005).

3.5.4 Pertumbuhan pada Suhu yang Berbeda

Pertumbuhan bakteri asam laktat pada suhu yang berbeda yaitu satu ose isolat BAL dilakukan penginokulasian pada media MRS broth sebanyak 1-1,5 ml. Isolat tersebut kemudian dilakukan penginkubasian selama 48 jam pada suhu yang berbeda yaitu: 10°C (lemari es), 27°C dan 50°C. Pertumbuhan isolat ditandai dengan adanya kekeruhan, endapan dan gas (Cappucino dan Sherman, 2005).

3.5.5 Identifikasi Spesies Menggunakan API 50 CHL (API-Biomerieux)

Isolat BAL yang sudah dilakukan penginokulasikan pada media MRS agar dengan metode gores dan menginokulasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur disiapkan dengan mengambil isolat dan memasukkannya ke dalam 10 mL medium suspensi API (*Analytical Profile Index*). Lubang plastik kit API diberi akuades steril (± 1 ml), selanjutnya meneteskan 1 mL kultur pada 50 *microtube* API 50CHL yang berisi 49 jenis gula dan dilakukan penutupan pada bagian atas dengan 1 mL parafin cair steril. Inkubasi Kit API 50CHL pada suhu 37°C selama 48 jam yang sudah diberi kultur. Adanya perubahan warna dari biru menjadi hijau hingga kuning atau hitam menyatakan sebagai uji positif. Perubahan warna tersebut dianalisis profil isolat dengan menggunakan Program APIWEBTM untuk mengetahui identitas kedekatannya (genus dan spesies).

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing genus bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari air rendaman tepung gaplek. Data yang diperoleh berbentuk kualitatif yang kemudian ditarik kesimpulan berdasarkan data tersebut.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Terdapat Sembilan isolat bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari air rendaman fermentasi tepung gapek yang diambil di Pabrik Mi Lethek Bendo, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY. Satu isolat bakteri asam laktat memiliki karakteristik gram negatif dan delapan isolat bakteri asam laktat memiliki karakteristik gram positif. Dari delapan isolat BAL gram positif dipilih tiga isolat yang tumbuh secara optimal pada suhu 27°C dan ukuran koloni. Isolat SA²⁴ mewakili koloni ukuran besar, SA₃(2)³⁶ mewakili koloni ukuran sedang, dan LA₂³⁶ mewakili koloni ukuran kecil. Berdasarkan hasil uji kit API 50CHL Isolat SA₃(2)³⁶ teridentifikasi dalam strain *Lactobacillus plantarum* 1 dengan *significant taxa* 99,9%, Isolat LA₂³⁶ termasuk teridentifikasi *Lactobacillus pentosus* dengan *significant taxa* 67,8% dan isolat SA²⁴ tidak dapat diidentifikasi. Isolat murni yang didapatkan dari hasil uji kit API 50CHL adalah SA₃(2)³⁶ yang termasuk dalam strain *Lactobacillus plantarum* 1 dengan karakteristik gram positif, memiliki zona bening, tumbuh optimal pada suhu 27°C, dan berbentuk batang, pendek, besar.

5.2 Saran

Fermentasi terkendali pada produksi mi letheke perlu dilakukan. Fermentasi dengan isolat BAL yang berhasil diisolasi diharapkan mampu membuat produk mie letheke yang memiliki karakteristik yang mirip dengan mie Lethek Bendo yang ada di DIY. Isolat tersebut diharapkan mampu memproduksi mi letheke dengan kualitas yang konsisten di pabrik mie Lethek Bendo.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammor S., Rachman C., Chaillou S., Revost H., Dousset X., Zagorec M., Doufour E., Chavallier I. 2005. Phenotype and genotype identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiol.* Vol: 22, 373-382.
- Astriani A., Nurud D, Jay J, dan Nurhayati. 2018. Phenotypic Identification of Indigenous Fungi and Lactic Acid Bacteria Isolated From 'gatot' an Indonesian Fermented Food. *Biodiversitas.* 19(3): 947-954
- Beel, C., Neaves, P., and Williams, A. P. 2005. *Food Microbiology. Laboratory Practice.* USA: Blackwell Publising.
- Cappucino J.G. dan Sherman N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual, Dary, The Benjamin or Cummings.* New York: Pulb. Co. Inc.
- Carr FJ, Hill D, Maida N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit Rev Microbiol.* 28: 281-370.
- Depkes RI. 1996. *Pedoman Umum Gizi Seimbang.* Direktorat Jenderal Bina Kesehatan Masyarakat. Jakarta.
- Diniyah N., Setiawati D., Windrati WS., & Subagio A. 2017. Karakterisasi Mi Mojang (Mocaf-Jagung) dengan Perbedaan Jenis dan Konsentrasi Bahan Pengikat. *Penelitian Pascapanen Pertanian.* 14(2):98 – 107.
- Khalid K. 2011. An Overview of Lactid Acid Bacteria. *International Journal of Biosciences.* 1(3):1-13.
- Nasution, Fatimah Sari. 2012. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Kotoran Ayam Broiler Sebagai Agensi Probiotik. *Undergraduate thesis.* UNIMED.
- Nurdiansyah F dan Umar HAH. 2018. Optimasi Fermentasi Asam Laktat oleh *Lactobacillus casei* pada Media Fermentasi yang Disubtitusi Tepung Kulit Pisang. *Journal of Biology.* 11(1): 64-71
- Nurhayati, N., Betty S. L. J, Harsi D. Kusumaningrum dan Sri W. 2011. Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa paradisiaca formatypica*). *Jurnal Ilmu Dasar.* Vol. 12. No. 2:210-225
- Putri, W. D. R., Haryadi., Marseno, D. W., Cahyanto M. N. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik Selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian.* Vol. 13 No. 1:52-60

- Reddy, G., Altaf, M. D., Naveena, B. J., Venkateshwar, M., & Kumar, E. V. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. *Biotechnology advances*. 26(1): 22-34.
- Nengah, S., Yan, R., Ni, P.W., Ni P.S., Ni M.U.D., Komang, A.N., Ni, W.N. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner*. 9(2): 52-59
- Sabbatini, Sanchez, Torre, Osella. 2014. Design of premix for making gluten free noodles. *International Jurnal Nutrition and Food Science*. 3(5):488-492.
- Saha D and Bhattacharya S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *J. Food Science Technol*. Vol 47(6): 587-597.
- Salminen S, Wright AV. 2004. Lactic Acid Bacteria: *Microbiology and functional aspect*. 2nd Edition. Revised and Expanded. New York: Marcell Dekker, Inc.
- Sari, W. P., Umniyati, S., Rakhmawati, A., dan Astuti. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Air Rendaman Tahap I Dalam Proses Pembuatan Mi Lethek. *Jurnal Biologi*. Vol 3(1): 2-5
- Sikorsi, Z. E. 2002. *Chemical and functional properties of food components*. Ed ke-2. CRC Press
- Suprpti. 2002. *Tepung Kasava Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.
- Togo, C.A., S. B. Feresu and A. N. Mutukumira. 2002. Identification of lactic acid bacteria isolated from opaque beer (chibuku) for potential use as a starter culture. *J. Food Tech. in Africa*. Vol 7(3): 93-97.
- Vos, D.P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., dan Whitman, W.B. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg.
- Wibowo, M. S. 2012. Pertumbuhan dan kontrol bakteri. Gajah Mada *University Press*. Yogyakarta.

LAMPIRAN

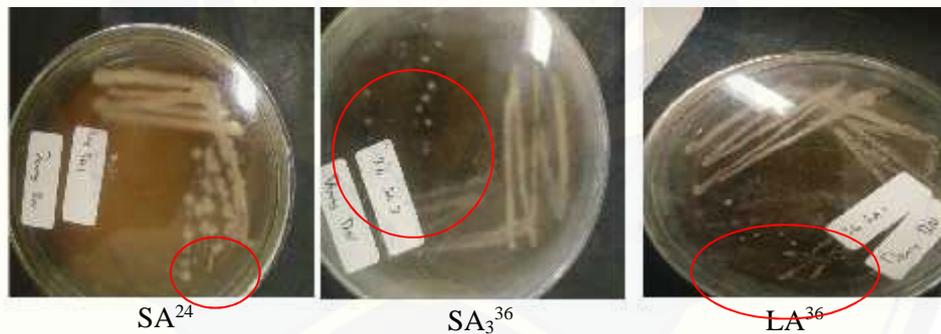
4.1 Proses isolasi Bakteri Asam Laktat Air rendaman Gaplek

-) Isolasi dilakukan di Pabrik Mi Lethek Bendo, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY



4.2 Pemurnian Bakteri Asam Laktat Indigenus Air Rendaman Gaplek

-) Isolat indigenus dari air rendaman gaplek 24 jam dan 36 jam



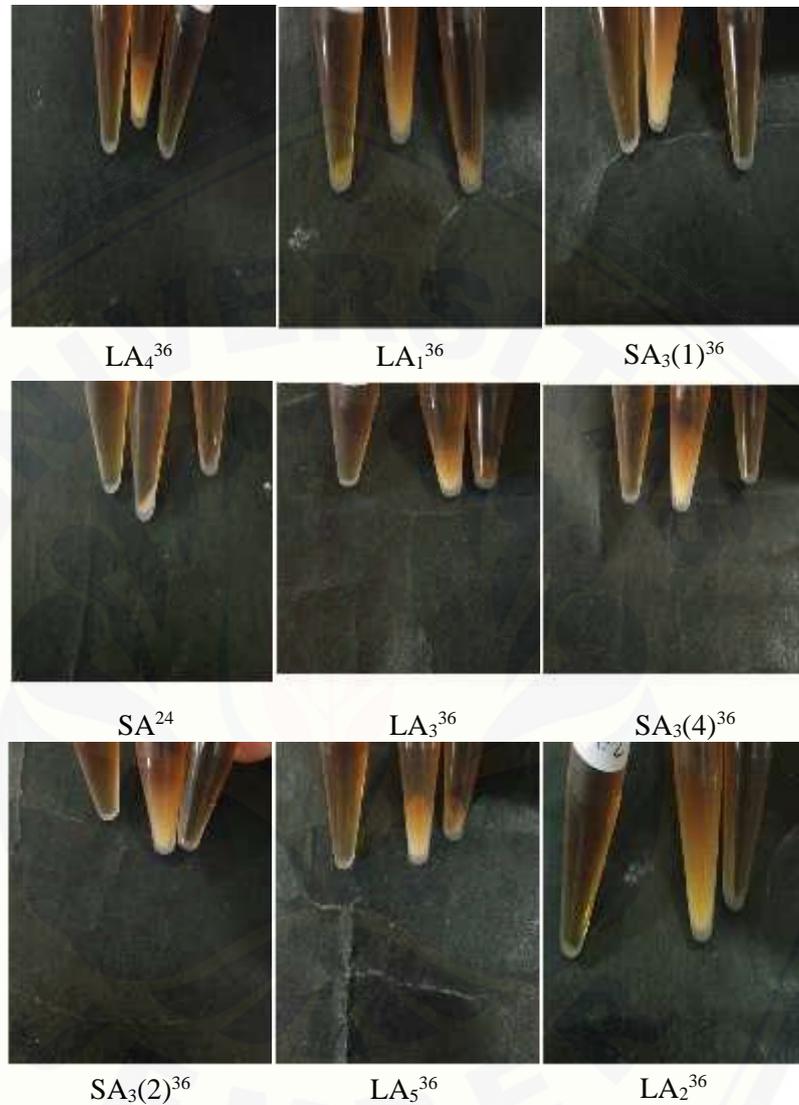
4.3 Uji Katalase Isolat BAL



Keterangan: Hasil uji katalase bakteri asam laktat menunjukkan bahwa isolat tidak menghasilkan gelembung setelah ditetesi H₂O₂ 3%

4.4 Uji Suhu Pertumbuhan Isolat BAL

-) Pengamatan pertumbuhan isolat BAL pada variasi suhu 15°, 27°C, dan 45°C (dari kiri ke kanan)



Keterangan: Perubahan warna media menjadi keruh menandakan adanya pertumbuhan isolat BAL. Semua isolat BAL menunjukkan dapat tumbuh optimal di suhu 27°C.

4.5 Identifikasi Spesies BAL menggunakan kit API 50CHL

Isolat LA₂³⁶Isolat SA₃₍₂₎³⁶Isolat SA²⁴

Keterangan: dapat dikatakan positif jika indikator bromcresol ungu yang mengandung medium berubah menjadi kuning. Untuk hasil tes pada tabung ke-25 apabila berubah dari warna ungu menjadi hitam maka hasil tes dapat dikatakan positif.

4.6 Hasil Tes Kit API 50CHL

) Isolat LA₂³⁶

REFERENCE	DATE
COMMENT	9/23/18
DOUBTFUL PROFILE	
Strip	API 50 CHL V5.2
Profile	-----
Note	
Significant taxa	% ID T Tests against
Lactobacillus pentosus	67.8 0.75 DXYL 100% MLZ 25%
Lactobacillus plantarum 1	32.1 0.74 GLY 1%
Next taxon	% ID T Tests against
Lactobacillus brevis 1	0.1 6.48 GLY 0% SOR 14% MLZ 14%

) Isolat SA²⁴

REFERENCE	DATE
COMMENT	10/11/18
UNACCEPTABLE PROFILE	
Strip	API 50 CHL V5.2
Profile	-----
Note	

) Isolat SA₃(2)³⁶

REFERENCE	DATE
COMMENT	9/23/18
EXCELLENT IDENTIFICATION	
Strip	API 50 CHL V5.2
Profile	-----
Note	
Significant taxa	% ID T Tests against
Lactobacillus plantarum 1	99.9 0.9 SOR 78%
Next taxon	% ID T Tests against
Lactobacillus brevis 1	0.1 0.49 MUYL 0% MLZ 14% IUR 14%

4.7 Jenis Substrat yang Dapat Difermentasi Sesuai Kit API 50CHL

Sumber Karbon	Kemampuan Memfermentasi		
	SA ²⁴	LA ₂ ³⁶	SA ₃₍₂₎ ³⁶
Control	+	-	-
Glycerol	+	+	-
Erythritol	+	-	-
D-Arabinose	+	-	-
L-Arabinose	+	+	+
D-Ribose	+	+	+
D-Xylose	+	-	-
L-Xylose	+	-	-
D-Adonitol	+	-	-
Methyl-βD-Xylopyranoside	+	-	-
D-Galactose	+	+	+
D-Glucose	+	+	+
D-Fructose	+	+	+
D-Mannose	+	+	+
L-Sorbose	-	-	-
L-Rhaminose	-	-	-
Dulcitol	-	-	-
Inositol	-	-	-
D-Manitol	+	+	+
D-Sorbitol	+	+	-
Methyl- D-Mannopyranoside	-	-	+
Methyl- D-Glucopyranoside	-	-	-
N-Acetylglucosamine	+	+	+
Amygdalin	+	+	+
Arbutin	+	+	+
Esculin ferric citrate	+	+	+
Salicin	+	+	+
D-Cellobiose	+	+	+
D-Maltose	+	+	+
D-Lactose (bovine origin)	+	+	+
D-Melibiose	+	+	+
D-Saccharose	+	+	+
D-Trehalose	+	+	+
Inulin	-	-	-
D-Melezitose	-	+	+
D-Raffinose	+	+	-
Amidon	-	-	-
Glycogen	-	-	-
Xylitol	-	-	-
Gentiobiose	+	+	+
D-Turanose	-	-	+

D-Lyxose	-	-	-
D-Tagatose	-	-	-
D-Fucose	-	-	-
L-Fucose	-	-	-
D-Arabitol	-	-	-
L-Arabitol	-	-	-
Potassium gluconate	+	+	+
Potassium 2-ketogluconate	-	-	-
Potassium 5-ketogluconate	+	-	-
Identifikasi Spesies menurut Kit API 50CHL	NO	Lactobacillus Pentosus	Lactobacillus plantarum 1

