

IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN KADAR ALKOHOL PADA AIR TAPE KETAN HITAM

Angriani Fusvita¹ Fitriani³

^{1,2}Politeknik Bina Husada Kendari, D4 Teknologi Laboratorium Medis

Email : angrianif@gmail.com

Sri Aprilianti Idris^{2*}

²Politeknik Bina Husada Kendari, D3 Teknologi Laboratorium Medis

Email : sriaprilianti.aakki@gmail.com

*corresponding author

ABSTRAK

Tape adalah makanan tradisional yang dibuat melalui proses fermentasi yang melibatkan ragi. Tape bervariasi tergantung bahan dasar yang digunakan salah satu diantaranya adalah beras ketan hitam. Proses fermentasi akan menyebabkan perubahan pada sifat substrat yang akan menimbulkan rasa asam, bau alkohol dan rasa khas. Salah satu bakteri yang dapat membantu proses fermentasi yaitu bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan kelompok bakteri probiotik yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Kadar Alkohol pada Air Tape Ketan Hitam. Metode Identifikasi bakteri dengan melakukan pewarnaan Gram dan uji Biokimia menggunakan alat Vitek 2 Compact serta metode Destilasi untuk mengukur kadar alkohol dengan sampel yang digunakan pada fermentasi hari ke 3, ke 4, dan ke 5. Hasil penelitian terhadap sampel pada fermentasi hari ke 3, ke 4, dan ke 5 ditemukan adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu *Enterococcus faecium* dan kadar alkohol tertinggi terdapat pada fermentasi hari ketiga yaitu sebesar 40,77 %.

Kata Kunci: Air tape ketan hitam, Bakteri Asam Laktat (BAL), Alkohol

ABSTRACT

Tape is a traditional food made through a fermentation process involving yeast. Tape varies depending on the basic ingredients used, one of which is black glutinous rice. The fermentation process will cause changes in the nature of the substrate which will cause a sour taste, the smell of alcohol and a distinctive taste. One of the bacteria can help the fermentation process is lactic acid bacteria (LAB) which is a group of probiotic bacteria which is very beneficial of human health. This study aims to determine the presence of Lactic Acid Bacteria (LAB) and Alcohol Levels in Black Glutinous Tape Water. Method of Identification bacteria by performing gram staining and biochemical test using the Vitek 2 Compact tool as well the Distillation method to measure alcohol content with samples used for fermentation day, 3, 4, and 5th. The result of the samples 3th, 4th, and 5th day fermentation found lactic acid bacteria (LAB) is *Enterococcus faecium* and the highest alcohol content in the third day fermentation of 40,77%.

Keywords: Black Sticky Tape Water, Lactic Acid Bacteria (LAB), Alcohol Levels

PENDAHULUAN

Salah satu makanan di Indonesia berbahan dasar beras ketan hitam adalah tape ketan hitam (Fermented Black Glutinous Rice) yang mengandung antosianin, fenol dan aktivitas antioksidan. Tape ketan hitam merupakan produk makanan hasil fermentasi yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia karena mudah dibuat, murah serta

mempunyai tekstur yang lunak dan berair dengan rasa yang manis dan asam. Tape ketan hitam ini dapat dikonsumsi, hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar alkohol yang dihasilkan dari tape ketan hitam yang dibuat secara tradisional adalah 0,10% dengan kadar air 52,803%; total gula 18,387%; pH 4,635 dan total asam 1,341% (Fauziyah, 2018).

Alkohol merupakan zat psikoaktif yang jika dikonsumsi secara terus menerus akan menimbulkan perilaku adiksi atau adiktif. Alkohol juga merupakan zat penekan susunan syaraf pusat meskipun dalam jumlah kecil namun mempunyai efek stimulasi ringan (Tritama, 2015)

Dalam tubuh manusia, bakteri dalam dilindungi sistem kekebalan dan bakteri probiotik yang mempunyai efek yang baik bagi kesehatan, bakteri probiotik ini didapatkan dari jenis bakteri asam laktat yang diketahui berada pada Tape ketan hitam yang merupakan salah satu sumber untuk isolasi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang memiliki kemampuan memfermentasi gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat (Bakteri et al., 2021).

Beberapa mikroba yang mempunyai potensi sebagai probiotik antara lain *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Mikroba yang dikatakan probiotik juga harus memiliki syarat tertentu yaitu merupakan mikroorganisme yang berasal dari tubuh manusia (secara alami terdapat dalam tubuh manusia), tidak bersifat patogen, tahan terhadap pemaparan asam lambung dan cairan empedu, mampu bertahan dalam dinding saluran cerna (Eni et al., 2015).

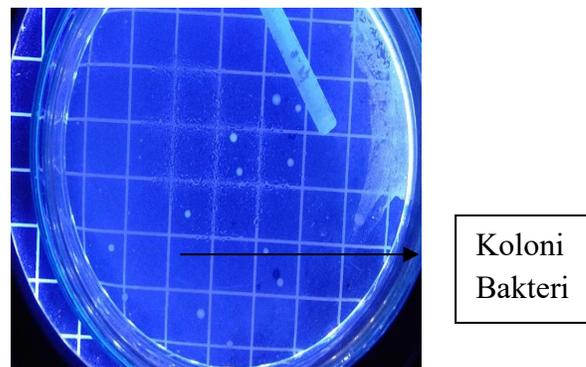
Melalui proses fermentasi karbohidrat dengan ragi akan menghasilkan etanol dan CO₂. Pada penelitian Yulanti tahun 2014 tentang uji kadar alkohol pada tape beras, tape ketan hitam dan tape singkong menunjukkan bahwa pembuatan tape yang mempunyai kadar alkohol paling tinggi pada tape beras sebesar 11%, pada tape ketan hitam sebesar 8,94% dan pada tape singkong sebesar 6,92% (Yulianti, 2014).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah air tape ketan hitam yang telah difermentasi pada hari 3,4 dan 5. Variabel dependen pada penelitian ini adalah air tape ketan hitam yang telah difermentasi pada hari ke 3, 4 dan 5. Variabel independent adalah bakteri asam laktat dan kadar alkohol. Hasil fermentasi air tape ketan hitam selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri dengan metode pengenceran dan penanaman bakteri menggunakan media Nutrient Agar (NA). Diamati koloni bakteri yang tumbuh pada media NA selanjutnya dilakukan pewarnaan gram. Penentuan spesies bakteri dengan uji biokimia yaitu alat *Vitek 2 Compact* (Fusvita & Idris, 2021).

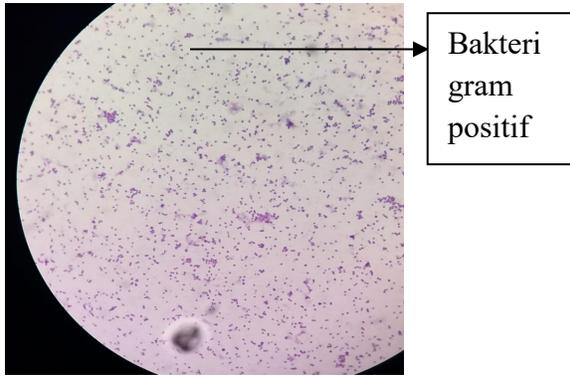
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini berisi hasil pengamatan morfologi bakteri pada media NA



Gambar 1. Koloni bakteri pada media NA

Gambar 1 merupakan hasil pengamatan koloni bakteri pada media NA dengan ciri bentuk koloni bulat, warna koloni putih, permukaan koloni halus, tepi rata dan elevasi cembung.



Gambar 2. Pewarnaan Gram
Hasil pengamatan uji biokimia pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan alat *Vitek 2 Compact*.

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia metode *Vitek 2 Compact*

Uji Biokimia							
1	AMY	-	16	Dxyl	-	31	AMAN
2	APPA	-	17	AspA	+	32	PyrA
3	LeuA	-	18	BGURr	-	33	POLYB
4	AlaA	-	19	Dsor	-	34	dMAL
5	Drib	+	20	LAC	+	35	MBdG
6	NOV	+	21	dMAN	+	36	Dtre
7	dRAF	-	22	SAL	+	37	AGLU
8	OPTO	+	23	ADH1	+	38	PHOS
9	PIPLC	-	24	BGAR	-	39	BGUR
10	CDEX	+	25	AGAL	+	40	Dgal
11	ProA	-	26	URE	-	41	BACI
12	TyrA	+	27	NAG	+	42	PUL
13	ILAT	-	28	dMNE	+	43	ADH2s
14	NC6.5	+	29	SAC	+		
15	O129	+	30	BGAL	+		
Result : 95% Probability				<i>Enterococcus faecium</i>			
(Sumber Data Primer, 2019)							

Keterangan

AMY	: <i>D- Amygdalin</i>
APPA	: <i>Ala-Phe-Pro Arylamidase</i>
LeuA	: <i>Leucine Arylamidase</i>
dRIB	: <i>D-Ribosa</i>
CDEX	: <i>Cyclodextrin</i>
ProA	: <i>L-Proline Arylamidase</i>
TyrA	: <i>Tyrosine Arylamidase</i>
ILATk	: <i>L-Lactate Alkalnisation</i>
NC6.5	: <i>Growth 6,5 % Nacl</i>
dSOR	: <i>D-Sorbitol</i>
O129R	: <i>O/129 Resistance</i>

dXY	: <i>D-xylose</i>
AspA	: <i>L-Aspartate Arylamidase</i>
BGURr	: <i>Beta Glucuronidase</i>
NOVO	: <i>Novobiocin resistance</i>
dRAF	: <i>D-rafinose</i>
OPTO	: <i>Optochin resistance</i>
PIPLC	: <i>Phosphatidyl inositol phospholipase C</i>
SAL	: <i>Salicin</i>
ADH1	: <i>Arginine dihydrolase</i>
BGAR	: <i>Alpha Galactosidase</i>
AGAL	: <i>Alpha-Galactosidase</i>
URE	: <i>Urease</i>
NAG	: <i>N-Acetyl-Glucosamine</i>
dMNE	: <i>D-Mannose</i>
SAC	: <i>Sucrose</i>
BGAL	: <i>Beta- Galactosidase</i>
AMAN	: <i>Alpha-manosidase</i>
POLYB	: <i>Polymixin B Resistance</i>
dMAL	: <i>D-Maltose</i>
MBdG	: <i>Mrthyl b-glucopyranidose</i>
dTRE	: <i>D-Trehalose</i>
AGLU	: <i>Alpha-Glucosidase</i>
PHOS	: <i>Phosphatase</i>
BGUR	: <i>Beta-Glucuronidase</i>
dGAL	: <i>D-Galactosa</i>
BACI	: <i>Bacitracin resistance</i>
PyrA	: <i>L-Pyrrolydonyl- Arylamidase</i>
LAC	: <i>Lactose</i>
dMAN	: <i>D-Manitol</i>
PUL	: <i>Pullulan</i>

Dari Tabel 1 diperoleh hasil uji biokimia pada sampel air tape ketan hitam yaitu Negatif pada uji AMY, APPA, LeuA, AlaA, dRAF, PIPLC, ProA, ILATk, dXYL, BGURr, dSOR, BGAR, URE, AGLU, PHOS, BGUR, PUL dan ADH2s. Sedangkan hasil Positif pada uji dRIB, NOVO, OPTO, CDEX, TyrA, NC6.5, O129R, AspA, LAC, dMAN, SAL, ADH1, AGAL, NAG, dMNE, SAC, BGAL, AMAN, PyrA, POLYB, dMAL, MBdG, dTRE, dGAL, dan BACL. Berdasarkan hasil Uji Identifikasi dan Uji Sensitivitas diperoleh 95% probability yaitu *Enterococcus faecium*.

Pengukuran kadar alkohol pada sampel air tape ketan hitam fermentasi 3, 4, dan 5 dengan menggunakan metode destilasi.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Alkohol Menggunakan Destilasi

No	Sampel	Jumlah Sampel (mL)	Volume Alkohol (mL)	Kadar Alkohol (%)
1	Fermentasi 3	65	26,5	40,77
2	Fermentasi 4	90	14,5	16,11
3	Fermentasi 5	100	90,5	9,5

(Sumber : Data Primer, 2019)

Berdasarkan Tabel 2 diperoleh hasil kadar Alkohol yang difermentasi pada hari ketiga sebanyak 40,77%, hari keempat 16,11 %, dan hari kelima sebanyak 9,5 % . Hal ini menunjukkan bahwa kadar alkohol tertinggi ada pada fermentasi hari ketiga sebanyak 40,77 % dan hasil kadar alkohol terendah pada fermentasi hari kelima sebanyak 9,5 %.

PEMBAHASAN

Penelitian tentang Identifikasi BAL (Bakteri Asam Laktat) dan Kadar Alkohol Pada Air Tape Ketan Hitam yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari, bertujuan untuk mengidentifikasi BAL (Bakteri Asam Laktat) dan mengetahui kadar alkohol yang terkandung dalam air tape ketan hitam.

Tape ketan merupakan salah satu makanan tradisional yang dibuat dengan cara memfermentasikan beras ketan menggunakan ragi. Pada proses pembuatannya terdiri dari beberapa tahap yaitu pertama dimasak beras ketan hitam yang telah dicuci menggunakan wajan besar hingga setengah matang setelah itu dikukus ke dalam panci hingga benar-benar matang lalu dinginkan dan dilanjutkan proses pemberian ragi. Setelah itu dilakukan pemeraman selama 3-5 hari dan diamati air tape ketan hitam yang dihasilkan dari proses fermentasi. Pada proses fermentasi, tape ketan hitam biasanya mulai dikonsumsi dan akan

mengeluarkan air pada hari ketiga. Salah satu bakteri yang dapat membantu proses fermentasi adalah bakteri asam laktat (BAL). BAL sering ditemukan secara alamiah dalam bahan pangan yang menyebabkan terbentuknya asam laktat dari penggunaan karbohidrat.

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif dan termasuk dalam kelompok bakteri baik yaitu aman bagi manusia, sehingga dapat dipublikasikan sebagai agen probiotik. Probiotik adalah mikroba hidup menguntungkan yang bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan di dalam saluran cerna (Eni et al., 2015). Bakteri probiotik yang termasuk dalam Bakteri Asam Laktat adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri Asam Laktat dapat memanfaatkan karbohidrat sebagai substrat untuk menghasilkan metabolit aktif pada proses pertumbuhannya selain itu juga digunakan sebagai bahan fungsional pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi.

Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan selama 4 hari dengan beberapa tahap. Hari pertama dilakukan pembuatan media NA (*Nutrient Agar*), lalu pada hari selanjutnya dilakukan isolasi sampel air tape ketan hitam fermentasi hari ke 3, 4, dan 5 pada media NA (*Nutrient Agar*). Dari hasil isolasi yang telah dilakukan pada sampel air tape ketan hitam yang telah diinkubasi selama 1 × 24 jam ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Pengamatan bakteri dilanjutkan secara makroskopis yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni dengan ciri-ciri koloni berbentuk bulat, berwarna putih, permukaan halus, tepi rata dan elevasi cembung.

Setelah pengamatan morfologi koloni bakteri dilanjutkan dengan melakukan Pewarnaan gram yakni membuat preparat dengan cara mencampurkan satu ose bulat

koloni bakteri dari media NA (*Nutrient Agar*) dengan larutan NaCl pada kaca objek jelas. Hasil yang didapat dari pewarnaan gram menunjukkan adanya bakteri gram positif berbentuk *coccus*, kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan alat *Vitek 2 Compact* ditemukan hasil adanya bakteri *Enterococcus faecium*. *Enterococcus faecium* merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang dapat dijadikan starter dalam proses fermentasi makanan (Gomes et al., 2010) yang membuatnya dapat mencegah kontaminasi dari makanan yang difermentasi. Selain itu, asam laktat yang diproduksinya dapat memberikan cita rasa unik pada makanan yang membuatnya disukai banyak orang (Lahtinen et al., 2011).

Enterococcus faecium memiliki banyak manfaat menguntungkan bagi kesehatan, antara lain; dapat mengasimilasi kolesterol (El-Jeni et al., 2016), dapat menurunkan diare meningkatkan sistem imun (Scharek et al., 2005), dapat meningkatkan berat badan (Simonová et al., 2009) serta memiliki aktivitas anti bakteri dari bermacam-macam bakteriosin yang diproduksinya (El-Jeni et al., 2016)

Berdasarkan hasil pengukuran kadar alkohol pada air tape ketan hitam yang difermentasi pada hari ketiga, keempat, dan kelima, didapatkan kadar alkohol hari ketiga sebesar 40,77%, hari keempat sebesar 16,11 %, dan hari kelima sebesar 9,5%. Kadar alkohol tertinggi terdapat pada sampel hari ketiga yaitu sebesar 40,77%. Penelitian ini menunjukkan lama fermentasi tidak berpengaruh terhadap peningkatan kadar alkohol. Hal ini disebabkan karena kadar alkohol dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut (Kunaepah, 2008) faktor yang mempengaruhi antara lain substrat, suhu, pH, dan mikroba yang digunakan. Pada

penelitian Sari *et al.*, 2008 menyatakan bahwa lama fermentasi paling optimal untuk proses pembuatan etanol adalah 3 hari. Jika fermentasi dilakukan lebih dari tiga hari justru kadar alkoholnya dapat berkurang. Berkurangnya kadar alkohol disebabkan karena kadar alkohol telah dikonversi menjadi senyawa lain yaitu ester (Sari & Yulneriwarni, 2008). Adapun standar mutu dalam mengkomsumsi alkohol menurut BPOM tahun 2016 tentang standar dan mutu minuman beralkohol pada anggur beras ketan hitam hasil fermentasi yang telah dimasak dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain, kadar etanol tidak kurang dari 7% dan tidak lebih dari 24%, secara umum dampak yang dapat ditimbulkan dari minuman yang mengandung alkohol adalah gangguan fisik berupa menyebabkan kerusakan hati, ginjal, jantung dan peradangan lambung. Mengkomsumsi minuman beralkohol secara terus menerus juga dapat menyebabkan gangguan jiwa karena minuman beralkohol dapat merusak jaringan otak dan menurunkan daya ingatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada sampel air tape ketan hitam ditemukan adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu bakteri *Enterococcus faecium*.
2. Kadar alkohol pada fermentasi hari ketiga sebesar 40,77%, hari keempat sebesar 16,11 %, dan hari kelima sebesar 9,5%. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa kadar alkohol tertinggi terdapat pada fermentasi hari ketiga yaitu sebesar 40,77 %.

SARAN

Diharapkan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis bakteri lain yang terdapat dalam sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakteri, K., Laktat, A., & Dari, B. A. L. (2021). *FERMENTASI TAPE SINGKONG*. 10(1), 1–5.
- El-Jeni, R., El Bour, M., Calo-Mata, P., Böhme, K., Fernández-No, I. C., Barros-Velázquez, J., & Bouhaouala-Zahar, B. (2016). In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes. *Canadian Journal of Microbiology*, 62(1), 60–71.
- Eni, R., Sari, W., & Moeksin, R. (2015). Pembuatan bioetanol dari air limbah cucian beras menggunakan metode hidrolisis enzimatik dan fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 21(1), 14–22.
- Fauziyah, N. (2018). *Makanan Fungsional Tape Ketan Hitam Mencegah Sindroma Metabolik*.
- Fusvita, A., & Idris, S. A. (2021). Exploration of bacteria and analysis of alcohol concentration in pongasi a tolaki's typical alcoholic beverage. *Journal of Physics: Conference Series*, 1899(1), 12008.
- Gomes, B. C., Franco, B. D., & Martinis, E. C. (2010). Dualistic Aspects of *Enterococcus* spp. *Foods. Formatex Research Center, Badajoz*.
- Kunaepah, U. (2008). *Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total Dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah The Effect Of Fermentation Duration And Glucose Concentration On Antibacterial Activity, Total Polyphenol And Chemical*. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & von Wright, A. (2011). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. Crc Press.
- Sari, I. M., & Yulneriwarni, N. D. (2008). Pemanfaatan Jerami padi dan alang-alang dalam fermentasi etanol menggunakan kapang *Trichoderma Viride* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. *Vis Vitalis*, 5(2), 55–62.
- Scharek, L., Guth, J., Reiter, K., Weyrauch, K. D., Taras, D., Schwerk, P., Schierack, P., Schmidt, M. F. G., Wieler, L. H., & Tedin, K. (2005). Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 105(1–2), 151–161.
- Simonová, M. P., Lauková, A., Chrastinová, L., Stropfová, V., Faix, Š., Vasilková, Z., Ondruška, L., Jurčík, R., & Rafay, J. (2009). *Enterococcus faecium* CCM7420, bacteriocin PPB CCM7420 and their effect in the digestive tract of rabbits.
- Tritama, T. K. (2015). Konsumsi alkohol dan pengaruhnya terhadap kesehatan. *Jurnal Majority*, 4(8), 7–10.
- Yulianti, C. H. (2014). Uji beda kadar alkohol pada tape beras, ketan hitam dan singkong. *Jurnal Teknika*, 6(1), 531–536.