

**Pengaruh Waktu Fermentasi Sari Kulit Buah Naga Merah
(*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Total Bakteri Asam Laktat (BAL)**

**Effect of Fermentation Time of Red Dragon Fruit Peel Juice
(*Hylocereus polyrhizus*) on Total Lactic Acid Bacteria (LAB)**

Aprilia Wulandari, M. Arifuddin, Yurika Sastyarina*

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: yurika@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Proses fermentasi menguraikan laktosa menjadi asam laktat dan berbagai komponen lain dengan parameter keberhasilan dilihat dari nilai pH dan Total Bakteri Asam Laktat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh lama waktu fermentasi dari sari kulit Buah Naga Merah pada nilai pH dan total bakteri asam laktat. Metode meliputi proses penyarian sampel dan pasteurisasi sari lalu dilanjutkan dengan fermentasi dengan variasi waktu 3, 4, 5 dan 6 hari pada suhu 37°C. Selain itu sari di preparasi menjadi larutan uji dengan pengenceran bertingkat untuk selanjutnya dilakukan pengujian total BAL dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Nilai pH terbaik ditunjukkan pada lama waktu fermentasi 5 hari yaitu 3,82 dan nilai total BAL terbaik ditunjukkan pada lama waktu fermentasi 6 hari yaitu 18×10^8 . Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap nilai pH dan total BAL.

Kata Kunci: Kulit Buah Naga Merah, Pengaruh Waktu Fermentasi, pH, Total Bakteri Asam Laktat

Abstract

Fermentation process decomposes lactose into lactic acid and various other components with success parameters seen from the pH value and Total Lactic Acid Bacteria. The purpose of this research is to analyze the effect of the fermentation time of the Red Dragon Fruit peel extract on the pH value and lactic acid bacteria. The method includes the process of extracting samples and pasteurizing the juice and then proceeding with fermentation with variations of 3, 4, 5, and 6 days at 37°C. In addition, the extract was prepared into a test solution with graded dilutions for further testing of totaled LAB using the Total Plate Count (TPC) method. The best pH value is showing in the 5-day fermentation time,

which is 3.82 and the best LAB value is showing in the 6-day fermentation time, which is 18×10^8 . The results showed that the time of fermentation affected the pH and LAB value.

Keywords: Peel of Red Dragon Fruit, Effect of Fermentation Time, pH, Total Lactic Acid Bacteria

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.545>

1 Pendahuluan

Fermentasi merupakan proses perubahan komposisi kimia yang disebabkan oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan sekelompok bakteri gram positif, tidak berspora, tidak mempunyai sitokrom, aerotoleran, bersifat anaerobik hingga mikroaerofilik, berbentuk bulat atau batang yang diklasifikasikan dalam filum subdivisi *Firmicutes* dan *Clostridium-Bacillus*. Bakteri asam laktat merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk mengubah gula menjadi asam laktat. Secara umum BAL merupakan bakteri mesofilik dengan beberapa strain bersifat termofilik dan mampu tumbuh pada suhu $5-45^{\circ}\text{C}$, BAL mampu tumbuh pada pH 3,8 dan bersifat proteolitik dengan kebutuhan asam amino yang sangat spesifik. Peran utama bakteri asam laktat dalam fermentasi adalah menghasilkan asam pada media yang difermentasi [1].

Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL mempunyai sifat kelarutan yang tinggi dan mudah dipolimerisasi untuk pembuatan berbagai jenis polimer. Oleh karena itu, asam laktat banyak dibutuhkan di berbagai industri seperti pada industri makanan, minuman, kosmetik maupun farmasi. Mengingat penggunaannya yang cukup luas, diharapkan melalui penelitian ini dapat dikembangkan [2]. Asam laktat dapat dibuat dari berbagai sumber yang mengandung karbohidrat. Pada penelitian ini digunakan kulit buah naga merah sebagai bahan baku pembuatan asam laktat karena kulit buah naga merah mengandung karbohidrat.

Prinsip utama pembuatan asam laktat pada penelitian ini adalah proses fermentasi glukosa dengan cara glikolisis. Karbohidrat mengalami pemecahan menjadi glukosa, dan

selanjutnya diubah menjadi asam laktat. Beberapa parameter penting dalam proses fermentasi adalah nilai pH dan total bakteri asam laktat. Jumlah asam laktat yang dihasilkan berhubungan erat dengan nilai pH, jumlah bakteri yang berkembang biak dan jumlah glukosa yang dikonsumsi oleh bakteri asam laktat [2].

Kulit buah naga juga memiliki kandungan sianidin 3-ramnosil glukosida 5-glukosida, flavonoid, thiamin, niacin, pyridoxine, kobalamin, fenolik, polifenol, karoten, phytoalbumin, dan betalain. Selain itu kulit buah naga berupa serat yang mengandung karbohidrat sehingga dapat dijadikan media tumbuh bakteri asam laktat untuk menghasilkan asam-asam organik [3]. Kulit buah naga ada yang berwarna merah menyala, merah gelap, dan kuning, tergantung dari jenisnya. Kulit buahnya agak tebal, yaitu sekitar 3-4mm. Disekujur kulitnya dihiasi dengan jumbai-jumbai menyerupai sisik ular naga. Kulit buah naga merupakan limbah hasil pertanian yang mengandung zat warna alami antosianin cukup tinggi. Antosianin merupakan zat warna yang berperan memberikan warna merah yang berpotensi menjadi pewarna alami untuk pangan dan dapat dijadikan alternatif pengganti pewarna sintetis yang lebih aman bagi kesehatan

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap total Bakteri Asam Laktat dari sari kulit buah Naga Merah yang telah difermentasi menggunakan bakteri asam laktat.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Autoclaf, batang pengaduk, botol vial, bunsen, cawan petri, corong *buchner*, corong kaca, erlenmeyer, *hotplate*, gelas kimia, gelas ukur, inkubator, *juicer*, *laminair air flow (LAF)*, mikrometer sekrup, mikropipet 50 μ l, ose bulat, pencadang, pH meter, pinset, pipet ukur, propipet, rak tabung, saringan, *spoit*, tabung reaksi, timbangan analitik, toples kaca, vakum.

2.1.2 Bahan

Aluminium foil, *Aquadest*, biakan bakteri *P. acne*, *blue tip*, isolat BAL, kertas saring, kulit buah naga merah, media MRS agar, media MRS *broth*, media *nutrient agar*, *nacl*, plastik wrap.

2.2 Prosedur

2.2.1 Peremajaan Isolat BAL

Isolat BAL hasil isolasi dari air kelapa gading diinokulasikan ke dalam medium MRS agar 5 ml sebanyak 3 ose yang telah dipijarkan terlebih dahulu. Selanjutnya hasil inokulasi dinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C.

2.2.2 Pembuatan Starter

Hasil peremajaan isolat BAL diinokulasikan ke dalam medium MRS *broth* 10 ml sebanyak 3 ose yang telah dipijarkan terlebih dahulu. Selanjutnya hasil inokulasi diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C.

2.2.3 Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Starter isolat BAL dilakukan pengujian aktivitas antibakteri untuk melihat aktivitas yang terbaik dari beberapa starter untuk selanjutnya digunakan pada proses fermentasi sari kulit buah naga merah. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Medium *nutrient agar* sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril sebagai media dasar. Diinokulasikan suspensi bakteri uji sebanyak 0,1 ml diatas medium yang telah padat lalu dihomogenkan. Kemudian, ditambahkan 7 ml medium *nutrient*

agar sebagai lapisan kedua, setelah memadat dibuat lubang sumuran menggunakan pencadang dengan diameter 7 mm. Dimasukkan starter ke dalam lubang sumuran menggunakan mikropipet sebanyak 50 μ l. Diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan mikrometer sekrup.

2.2.4 Preparasi Sampel

Buah naga merah segar yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang menempel, dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan tiriskan, dikupas buah naga untuk mengambil kulitnya dan pastikan tidak ada daging buah yang tersisa. Kulit buah naga merah dirajang menjadi bagian yang lebih kecil dan ditimbang. Sampel kulit buah naga merah dihancurkan menggunakan *juicer* dan disaring hingga diperoleh sari kulit buah naga merah.

2.2.5 Proses Fermentasi

Sari kulit buah naga merah dipasteurisasi selama 15 menit dengan suhu 100°C. Starter BAL dengan aktivitas yang paling baik dimasukkan sebanyak 5% ke dalam sari. Sari yang telah ditambahkan starter diinkubasi didalam inkubator selama 3, 4, 5, dan 6 hari dengan suhu 37°C.

2.2.6 Uji pH

Hasil fermentasi sari kulit buah naga merah diukur nilai pH nya dengan menggunakan pH meter sesuai dengan variasi lama fermentasi.

2.2.7 Uji Total BAL

Pengujian total BAL dilakukan dengan metode hitung cawan (*Total Plate Count*). Metode hitung cawan digunakan untuk menentukan total bakteri asam laktat. Penghitungan total bakteri asam laktat diawali dengan sari fermentasi diencerkan dalam aquades steril dengan perbandingan 1:9. Pengenceran dilakukan dari 10^{-1} - 10^{-8} , pada pengenceran pertama sebanyak 1 ml sampel diencerkan ke dalam 9 ml aquades steril, pengenceran kedua dilakukan dengan 1 ml yang sudah diencerkan pada pengenceran pertama dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, pengenceran ketiga dan seterusnya dilakukan

dengan cara yang sama seperti pengenceran kedua. Pencawanan dilakukan dengan media biakan MRS agar, 1 ml sampel hasil pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi MRS agar setengah padat \pm 10 ml, pencawanan dilakukan duplo dari pengenceran 10^{-4} - 10^{-6} . Kemudian, cawan petri digerakkan membentuk angka 8, agar homogen. Setelah padat, cawan tersebut diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian, dilakukan perhitungan jumlah mikroba (cfu/ml) menggunakan *colony counter*.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji pendahuluan

Uji pendahuluan aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat BAL yang akan digunakan masih dalam keadaan layak pakai atau hidup. Hasil pengujian aktivitas antibakteri starter BAL terhadap bakteri patogen p. Acne dengan kode A-C dan masing masing kode direplikasi sebanyak dua kali. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dengan rata-rata tertinggi ditujukan pada kode starter C yaitu senilai 28,15 yang berarti sangat kuat.

Tabel 1.1 Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri Starter BAL

Sampel	Diameter (mm)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
A1	27	30	22	26,3
A2	28	35	24	29
B1	29	32	24	28,3
B2	25	35	20	26,6
C1	31	32	22	28,3
C2	28	33	23	28
Kontrol (-)	-	-	-	-

Pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan metode sumuran. Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang sumuran disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah itu dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang sumuran [4].

3.2 Nilai pH

Pegukuran pH pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman sari fermentasi dengan menggunakan pH meter. Proses fermentasi ini merupakan fermentasi asam laktat, dimana dalam proses fermentasinya gula diubah menjadi asam laktat dengan melibatkan bakteri asam laktat. Berikut ini merupakan nilai pH dari sari fermentasi kulit buah naga merah. Nilai pH akan mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri kemudian akan mempengaruhi produksi bakteriosin. Semakin kecil nilai pH nya kemungkinan akan semakin banyak bakteriosin yang akan diproduksi oleh bakteri asam laktat, keadaan tersebut disebut dengan pH optimum. Dalam media yang sesuai bakteri asam laktat akan tumbuh dan menghasilkan asam laktat, pertumbuhan bakteri asam laktat meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi.

Tabel 1.2 Pengujian Nilai pH Sari Fermentasi

Sampel	Nilai pH
Sari fermentasi 1 (3 hari)	4,82
Sari fermentasi 2 (4 hari)	4,79
Sari fermentasi 3 (5 hari)	3,82
Sari fermentasi 4 (6 hari)	4,73

Berdasarkan tabel 1.2 perlakuan dengan waktu fermentasi 3 hari hingga 5 hari menunjukkan terjadinya peningkatan keasaman yang menyebabkan pH turun dari 4,82 menjadi 3,82. Sedangkan pada fermentasi hari ke 6 nilai pH nya 4,73. Sari fermentasi ini mengandung asam organik yang menyebabkan sari menjadi asam. Semakin lama waktu fermentasi maka asam-asam organik tersebut semakin meningkat dan diikuti dengan penurunan terhadap nilai pH. Hal ini sesuai dengan pendapat Suriasih dan Sucipta bahwa laktosa akan didegradasi menjadi glukosa dan galaktosa menjadi piruvat. Terbentuknya asam laktat oleh bakteri asam laktat menyebabkan penurunan nilai pH pada sari fermentasi [5]. Pada fermentasi hari ke-7 nilai pH meningkat, hal ini terjadi karena berhubungan dengan asupan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Semakin lama waktu fermentasi maka kebutuhan nutrisi akan semakin habis sehingga bakteri asam laktat mengalami

kematian dan tidak dapat memproduksi asam laktat lagi.

Hasi nilai pH yang ditunjukkan dapat dilihat bahwa bakteri asam laktat mengalami fase adaptasi. Fase lag merupakan fase dimana bakteri mengalami adaptasi dengan lingkungannya, pada saat itu sel mengalami perubahan komposisi kimiawi dan ukuran, serta bertambahnya substansi intraseluler untuk membelah diri. Setelah fase lag selesai memasuki fase logaritma (eksponensial) dimana bakteri telah dapat beradaptasi dengan lingkungannya, sehingga laju pertumbuhan bakteri sangat cepat. Sel bakteri membelah diri dengan konstan, sehingga massa menjadi dua kali lipat. Selanjutnya, pada saat memasuki masa stasioner konsentrasi biomassa menjadi maksimal, jumlah sel cenderung stabil. Kemudian sel bakteri akan mengalami fase kematian, yang ditandai dengan naiknya nilai pH. Hal ini dikarenakan dengan bertambahnya waktu fermentasi, enzim laktat dehidrogenase yang dikeluarkan semakin bertambah. Ketika sumber nutrisi yang digunakan habis dan bakteri asam laktat sudah tidak bertumbuh dan berkembang biak lagi, maka enzim yang dihasilkan juga akan menurun sehingga tidak dapat memproduksi asam laktat yang lebih banyak lagi.

Pada penelitian ini menggunakan starter bakteri asam laktat. Di mana kelebihan menggunakan starter dalam bentuk cair proses adaptasinya menjadi fermentasi yang berlangsung lebih cepat. Hal ini membuat bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik dan cepat, sehingga menghasilkan asam-asam organik yang menyebabkan terjadinya penurunan pH. Berdasarkan hasil tersebut perlakuan dengan lama waktu fermentasi 5 hari adalah waktu yang optimal yang dibutuhkan sari fermentasi untuk mendapatkan pH terbaik. Hal ini dikarenakan waktu fermentasi 5 hari sudah menunjukkan perbedaan nyata terhadap waktu fermentasi 3 hari, yang artinya ada pengaruh perlakuan lama waktu fermentasi terhadap nilai pH.

3.3 Total BAL

Total Bakteri Asam Laktat merupakan parameter spesifik pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri asam laktat merupakan salah satu indikator keberhasilan produk fermentasi dengan bakteri asam laktat.

Tabel 1.3 Pengujian Nilai Total BAL Sari Fermentasi

Sampel	Nilai Total BAL
Sari fermentasi 1 (3 hari)	38×10^6 cfu/mL
Sari fermentasi 2 (4 hari)	28×10^6 cfu/mL
Sari fermentasi 3 (5 hari)	23×10^7 cfu/mL
Sari fermentasi 4 (6 hari)	18×10^8 cfu/mL

Analisis total bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) atau hitung cawan. Hitung cawan dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang erdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Perhitungan jumlah koloni bakteri yaitu hitung jumlah koloni pada setiap seri konsentrasi yang diujikan.

Berdasarkan tabel 1.3 dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap variasi waktu fermentasi yang dilakukan. Sesuai dengan pendapat Lindawati [6] bahwa pada proses fermentasi, lama waktu menjadi salah satu indikator tumbuhnya bakteri asam laktat. Hal ini dikarenakan fase awal fermentasi mikroba akan menyesuaikan diri terhadap substrat yang menjadi media hidup bakteri asam laktat sehingga perbanyak sel belum ditekankan dan juga pada proses adaptasi terjadi proses transpor aktif sehingga nutrisi untuk bertahan hidup masih tercukupi [6]. Mikroba yang ada pada sari kulit buah naga merah memiliki nilai yang semakin meningkat, hal ini diduga karena mikroba mengalami fase eksponensial dimana mikroba yang ada pada sari kulit buah naga merah mulai beradaptasi dengan kondisi substrat sehingga proses perbanyak sel dapat dimaksimalkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Khoriyah dan Ardinarsih bahwa pada fase eksponensial, mikroba mengalami pertumbuhan yang dipercepat sehingga jumlah sel yang ada pada substrat meningkat, hal tersebut dikarenakan adanya nutrisi yang cukup, kondisi lingkungan yang menguntungkan sehingga perbanyak sel dapat dilakukan dengan maksimal [7]

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka semakin meningkatkan keasaman sehingga nilai pH turun dan semakin banyak bakteri asam laktat yang tumbuh.

Dilihat dengan nilai pH turun hingga hari ke-5 yaitu 3,82 dan nilai total bakteri asam laktat mengalami peningkatan sampai hari ke-6 dengan total BAL 18×10^8 cfu/mL.

5 Kontribusi Penulis

Aprilia Wulandari: Melakukan penelitian, pengumpulan data pustaka serta menyiapkan draft manuskrip. Yurika Sastyarina dan M. Arifuddin: Pengarah, pembimbing, serta penyelarasan akhir manuskrip.

6 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

7 Daftar Pustaka

- [1] Putri, dkk. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) yang Diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika Vol. 1 No. 2*.
- [2] Ferdaus, Fani. 2008. Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat, dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat Dari Kulit Pisang. *Widya Teknik Vol. 7, No. 1 (1-14)*
- [3] Yanti, Rusmini. 2015. *Daya Terima dan Vitamin C Sari Buah Kulit Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Dengan Proses Pengolahan Yang Berbeda*.
- [4] Nurhayati, Lilih Siti, dkk. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan, 1(2):41-46*
- [5] Suriasih, K dan I. N. Sucipta. 2014. *Susu sapi Bali sebagai satvika bhoga*. Udayana University Press, Denpasar, Bali.
- [6] Lindawati, S. A., N. L. Sriyani., M. Hartawan., dan I.G. Suranjaya. 2015. Study mikrobiologis kefir dengan waktu simpan berbeda. *Majalah Ilmiah Peternakan 18(3): 95-99*
- [7] Khoiriyah, H., dan P. Ardiningsih. 2014. Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin *Lactobacillus sp. RED4*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa 3(4): 14-20*