PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI PEDIOCOCUS ACIDILACTICI DAN WAKTU PERTUMBUHAN TERHADAP KADAR PROTEIN TERLARUT EKSTRAK CACING TANAH

EFFECT OF ADDITION PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI BACTERIA AND TIME OF GROWTH IN DISSOLVED PROTEIN OF EARTHWORM EXTRACT

Nur Hidayat, Hanna Permatasari Purba dan Beauty Suestining Dyah
Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fak. Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
Email: nhidayat@ub.ac.id

ABSTRAK

Cacing tanah jenis *L.rubellus* memiliki nutrisi yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh mikroorganisme menggantikan pepton ataupun ekstrak daging. Untuk mengetahui fungsi tersebut maka dilakukan uji pada bakteri *Pediococcus*. Bakteri *Pediococcus* merupakan bakteri probiotik yang memiliki aktivitas protease yang diharapkan mampu mempertahankan dan meningkatkan kadar protein terlarut dengan meningkatnya waktu pertumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati penambahan starter bakteri dan waktu pertumbuhan mikroba selama fermentasi terhadap nilai terbaik kadar protein terlarut dari ekstrak cacing tanah. Rancangan percobaan yang digunakan berupa Rancangan Acak Tersarang (Nested Design) terdiri dari penambahan starter bakteri *Pediococcus acidilactici* dan tanpa penambahan starter bakteri dengan waktu pertumbuhan 2 hari, 4 hari, dan 6 hari. Hasil penelitian diperoleh nilai terbaik kadar protein terlarut ekstrak cacing tanah dengan penambahan starter bakteri pada waktu pertumbuhan selama fermentasi 2 hari yaitu sebesar 1,26%.

Kata kunci: Cacing Tanah, *Pediococcus acidilactici*, Protein Terlarut

ABSTRACT

Earthworm (L.rubellus) has a high nutrient that can be used as a growth medium of microorganisms replacing pepton or meat extract. To determine its function analysis on Pedioccocus bacteria was done. Pediococcus is a probiotic bacterium that has protease activity which is expected to maintain and increase dissolved protein content with increasing growth time. The aim of this study is to determine the addition of bacterial starter and microbial growth time during fermentation against the best value of dissolved protein content from earthworm extract. The experimental design used in the form of Nested Design consists of the addition of Pediococcus acidilactici bacteria starter and without addition of bacterial starter with Growth Time at 2 days, 4 days and 6 days. The result of the research was found the best dissolved protein content of earthworm extract with starter mixture at the time of growth during 2 days fermentation that is equal to 1,26%.

Keywords: *Earthworm, Pediococcus acidilactici, Dissolved Protein*

PENDAHULUAN

Cacing tanah merupakan hewan avertebrata yang banyak diteliti secara ilmiah karena memiliki banyak manfaat. Cacing tanah memiliki nilai gizi yang cukup tinggi terutama pada kandungan protein. Satu ekor cacing tanah memiliki kandungan protein mencapai 64-76 %. Kandungan gizi lain nya yaitu lemak 7-10%, kalsium 0,55%, fosfor 1%, serat kasar 1,08%, juga

mengandung auxin yang digunakan sebagai perangsang tumbuh untuk tanaman (Palungkun, 2010). Hayati (2011) mengatakan bahwa tepung cacing tanah *Lumbricus rubellus* memiliki kadar protein kasar 65,63% dan asam amino prolin sekitar 15% dari total 62 asam amino. Cacing tanah yang kaya akan nutrisi dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh mikroorganisme menggantikan pepton ataupun ekstrak daging. Kondisi tersebut menjadi peluang untuk meningkatkan nilai guna cacing tanah. Salah satu upaya untuk meningkatkan nilai guna cacing tanah tersebut yaitu dengan melakukan ekstraksi terhadap kandungan protein cacing tanah dan melakukan uji terhadap mikroorganisme proteolitik.

Pada proses pelarutan protein secara anaerob diberikan tambahan garam sebagai pelarut. Stone et. al (2015) mengatakan bahwa kelarutan protein akan meningkat apabila ditambahakan larutan garam. Penambahan larutan garam pada proses pelarutan protein akan mempengaruhi mikroorganisme yang melakukan degradasi terhadap protein pada cacing tanah. Oleh sebab itu, dilakukan penambahan bakteri *Pediococcus acidilactici* dan dilakukan fermentasi sesuai dengan variasi waktu. Bakteri *Pediococcus acidilactici* merupakan bakteri asam laktat yang menghasilkan substansi antimikroba yaitu pediosin. Bakteri *Pediococococus* memiliki kemampuan toleran terhadap larutan garam berkisar antara 15 hingga 20% (kusmarwati dkk, 2011). Muliati (2014) mengatakan bahwa aktivitas protease bakteri *Pediococcus* mulai terlihat setelah 48 jam. Sedangkan pediosin mulai dihasilkan pada waktu 16 jam dengan suhu 32^0C (Cintas, *et al*., 1995).

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan pelarutan protein secara fermentasi anaerob dengan tambahan bakteri *P.acidilactici* dan Waktu Pertumbuhan (2 hari, 4 hari dan 6 hari). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati penambahan starter bakteri dan waktu pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi terhadap nilai terbaik protein terlarut dari ekstrak cacing tanah.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada mulai 7 September 2016 hingga 23 November 2016. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioindustri, dan Teknologi Agro Kimia Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cacing tanah segar *(Lumricus rubellus)* yang diambil dari budidaya cacing tanah milik Bapak Miselan di Dusun Krajan, Desa Gading Kulon, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang, bakteri *Pediococus acidilactici* F-11 diperoleh dari Universitas Gadjah Mada, garam kasar tanpa yodium (lokal), de Mann Rogossa Agar (MRSA), pepton (*Merck), aquades* (teknis), dan alkohol 70%. Bahan analisis yang digunakan adalah NaOH (teknis), indikator PP 1% (teknis) dan *formaldehid (teknis).*

Alat

Peralatan dan Instrumen yang digunakan pada penelitian yaitu wadah putih (*fox pet*), *beaker glass* (*pyrex iwaki*), autoklaf, laminar air flow (*nuaire*), *incubator*, gelas ukur (*iwaki),* tabung reaksi (*pyrex iwaki*), rak tabung reaksi, suntikan, plastisin, cawan Petri, haemacytometer, blender, pipet tetes, pipet ukur (*pyrex*), erlenmeyer (*iwaki*), pH meter, bunsen, timbangan analitik, timbangan digital, mikroskop (*yazumi*), mikropipet (*accumax pro*), spatula, bola hisap (vitlab), kertas *wrap*, kertas coklat.

Peralatan dan instrument yang digunkan untuk analisis yaitu desikator, glassware, statif, pipet, thermometer, biuret (*pyrex iwaki*), kertas saring *Whatman* no 41, mikro pipet 1000 μL, dan corong.

Batasan Masalah

1. Cacing yang digunakan yaitu cacing tanah (*Lumricus rubellus)* dalam bentuk segar, diambil dari peternak cacing tanah di Desa Gading Kulon, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.
2. Cacing yang digunakan tidak memperhitungkan ukuran dan umur cacing.
3. Peneliti tidak menganalisis jenis asam amino pada protein terlarut cacing tanah.
4. Peneliti tidak mengukur jumlah udara yang keluar dari wadah ke dalam tabung reaksi.

Pelaksanaan Penelitian

Proses pelarutan protein dari ekstrak cacing tanah diawali dengan mempersiapkan bahan baku, kemudian proses pelarutan secara anaerob. pembuatan larutan cacing tanah, penambahan bakteri *Pediococcus acidilactici*, pengkondisian anaerob, dan analisis hasil. Diagram alir pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 1.**

Metode

Metode Penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Tersarang (*Nested Design*) dengan faktor penambahan starter dan waktu pertumbuhan. Masing-masing faktor terdiri dari 3 level yaitu 2 hari, 4 hari dan 6 hari, sehingga diperoleh 6 kombinasi perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan, Perlakuan tersebut yaitu :

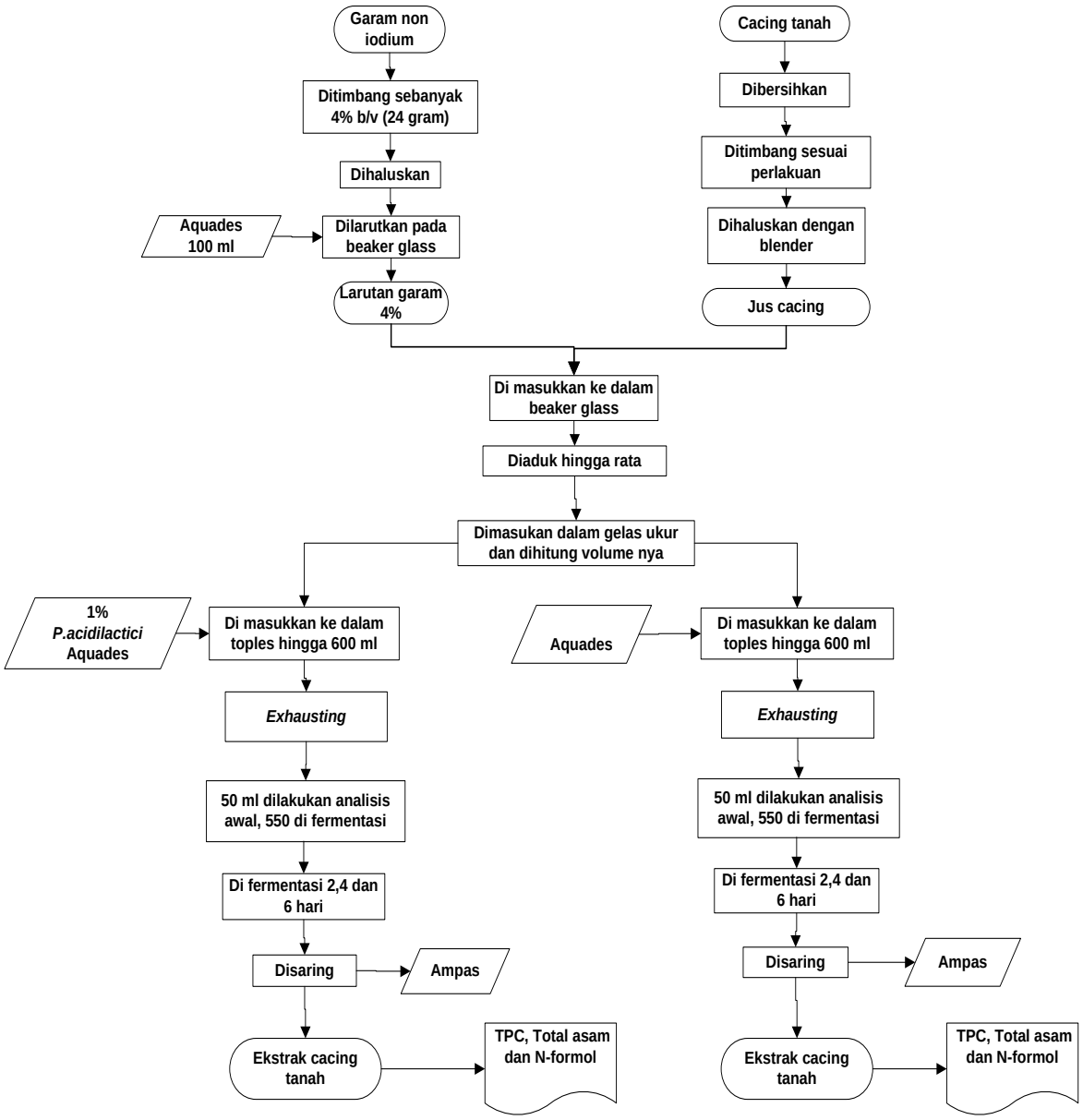
M_1I_1 = Tanpa penambahan starter bakteri dan waktu pertumbuhan 2 hari
M_2I_1 = Penambahan starter *Pediococcus acidilactici* dan waktu pertumbuhan 2 hari
M_1I_2 = Tanpa penambahan starter bakteri dan waktu pertumbuhan 4 hari
M_2I_2 = Penambahan starter *Pediococcus acidilactici* dan waktu pertumbuhan 4 hari
M_1I_3 = Tanpa penambahan starter bakteri dan waktu pertumbuhan 6 hari
M_2I_3 = Penambahan starter *Pediococcus acidilactici* dan waktu pertumbuhan 6 hari

Data hasil uji (Protein Terlarut, Total Plate Count (TPC) dan Total asam) kemudian di analisis menggunakan rancangan tersarang (*Nested Design*) dengan sidik ragam. Apabila terdapat pengaruh nyata pada kedua perlakuan dilakukan uji lanjut BNT (beda nyata terkecil) dengan taraf nyata 5% atau 1% tergantung dari signifikansi pada sidik ragam. Penentuan perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan kombinasi perlakuan yang menghasilkan protein terlarut paling tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein Terlarut

Hasil rerata uji protein terlarut pada sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa penambahan starter bakteri *Pediococcus acidilactici* tidak berpengaruh nyata terhadap nilai protein ekstrak cacing tanah, sedangkan faktor variasi waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap protein terlarut ekstrak cacing tanah. Hasil rerata uji protein terlarut dapat dilihat pada **Tabel 1.**



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian Pelarutan Protein Cacing Tanah

Tabel 1 Rerata Nilai Protein Terlarut Terhadap Faktor Tersarang

Waktu Pertumbuhan	Rerata Protein Terlarut (%)	
	Penambahan Starter Bakteri	Tanpa Penambahan Starter Bakteri
Hari ke-0	1,20a	1,08a
Hari ke-2	2,48b	2,31b
Hari ke-4	1,79ab	0,94a
Hari ke-6	0,78a	0,85a

*Notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya beda nyata (P<0.05), Nilai BNT = 0,92

Nilai protein terlarut mengalami kenaikan hingga hari ke-2 lalu menurun setelah hari ke-2 hingga hari ke-6. Penurunan nilai protein terlarut disebabkan bakteri yang terdapat pada ekstrak cacing tanah menggunakan nitrogen yang terdapat pada asam amino untuk pertumbuhannya sehingga jumlah protein yang terlarut semakin kecil. Sutarma (2000) mengatakan bahwa sumber N untuk kebutuhan nutrisi ada 2 yaitu, N berasal dari nitrogen anorganik dan N dari nitrogen organik. Kebutuhan N dari nitrogen anorganik biasanya dipakai amonium nitrat $(NH_4)(NO_3)$ atau amonium sulfat $(NH_4)_2SO_4$, sedangkan N dari nitrogen organik diperoleh dari protein/pepton atau asam-asam amino. Menurut Pollack *et al.* (2005), sumber senyawa nitrogen dipecah dari asam amino, peptida, pepton dan asam nukleat. Senyawa nitrogen digunakan bakteri untuk memperbaiki sel yang rusak, nutrisi pertumbuhan bakteri, dan sintesis DNA/RNA. Kemampuan menghidrolisis protein sebagai salah satu kriteria seleksi bakteri probiotik.

Total Plate Count (TPC)

Hasil rerata uji Total Plate Count (TPC) pada sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa penambahan starter bakteri tidak berpengaruh secara nyata sedangkan variasi waktu fermentasi berpengaruh secara nyata terhadap nilai TPC. Hasil Uji dapat dilihat pada **Tabel 2.**

Tabel 2 Rerata nilai *Total Plate Count* (TPC) Terhadap Faktor Tersarang

Waktu Pertumbuhan	Rerata Total Plate Count (log)	
	Penambahan Starter Bakteri	Tanpa Penambahan Starter Bakteri
Hari ke-0	7.17a	7.00a
Hari ke-2	9.68b	8.73b
Hari ke-4	9.54b	9.00c
Hari ke-6	7.66a	8.00b

*Notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P<0.05$), Nilai BNT = 0,80

Hasil TPC memperlihatkan bahwa pada reaktor yang diberi tambahan bakteri sebelum fermentasi yaitu hari ke-0 hingga hari ke-2 nilai TPC mengalami peningkatan. Sementara itu nilai TPC mengalami penurunan setelah hari ke-2 hingga hari ke-6. Peningkatan total bakteri pada fermentasi ekstrak cacing tanah menunjukan bahwa adanya pertumbuhan bakteri halofilik/halotoleran termasuk bakteri asam laktat selama proses fermentasi dengan adanya penambahan garam. Gram *et al.* (2002) menyatakan bahwa perubahan total mikroorganisme dipengaruhi oleh penghambatan larutan garam selama fermentasi. Perubahan jumlah mikroorganisme tersebut dari awal fermentasi kemudian mencapai jumlah tertinggi lalu pada akhir fermentasi mengalami penurunan jumlah mikroorganisme. (Nedissa, 2013) mengatakan bahwa penurunan nilai TPC disebabkan karena bakteri *Pediococcus acidilactici* menekan pertumbuhan bakteri lainnya dengan diproduksinya substansi antimikroba patogen.

Pada reaktor dengan faktor tanpa penambahan bakteri memperlihatkan terjadinya perubahan jumlah mikroba selama fermentasi setelah hari ke-2. Jumlah

mikroba meningkat lalu mengalami penurunan setelah hari ke-4. Pola ini menggambarkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas dan kondisi pertumbuhan mikroba yang terdapat pada cacing tanah. Perbedaan total sel mikroba yang terdapat selama fermentasi cacing tanah menunjukan bahwa terjadi suksesi mikroba. Andarti dkk (2015) mengatakan bahwa pada proses fermentasi mikroba akan mengalami pertumbuhan dan peningkatan. Mikroba memanfaatkan nutrisi yang tersedia untuk proses pertumbuhan dan pembelahan sel sehingga terjadi peningkatan jumlah mikroba. Peningkatan mikroba tidak terjadi secara berkelanjutan selama proses fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, jumlah mikroba akan semakin menurun. Mikroba yang tumbuh pada fase awal akan mengalami kematian dan digantikan dengan mikroba baru, hal ini dikarenakan nutrisi dan energi cadangan yang tersedia sudah habis.

Total Asam

Hasil rerata uji protein terlarut pada sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa penambahan starter bakteri *Pediococcus acidilactici* dan variasi waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai protein ekstrak cacing tanah. Hasil rerata uji protein terlarut dapat dilihat pada **Tabel 3.**

Tabel 3. Rerata Nilai Total Asam Terhadap Faktor Utama

Penambahan Bakteri	Rerata Total Asam (%)	Notasi
Penambahan Starter Bakteri *P.acidilactici*	0,07	a
Tanpa Penambahan Bakteri	0,06	b

Pada **Tabel 3.** menunjukkan bahwa penambahan starter bakteri menghasilkan total asam lebih tinggi daripada tanpa penambahan bakteri. Hal ini disebabkan jumlah bakteri asam laktat lebih dominan dibandingkan bakteri alami. Kandler (1983) mengatakan bahwa bakteri *P.acidilactici* merupakan bakteri homofermentatif, dimana pada proses fermentasi hanya menghasilkan asam laktat saja. Pada proses fermentasi akan terjadi hidrolisis karbohidrat (glukosa) oleh bakteri asam laktat. Molekul glukosa akan dirubah menjadi asam piruvat (glikolisis) dan asam piruvat menjadi asam laktat.

Tabel 4. Rerata Nilai Total Asam Terhadap Faktor Tersarang

Waktu Pertumbuhan	Rerata Total Asam (%)	
	Penambahan Starter Bakteri	Tanpa Penambahan Starter Bakteri
Hari ke-0	0.03a	0.03a
Hari ke-2	0.10c	0.09c
Hari ke-4	0.08c	0.06b
Hari ke-6	0.06b	0.06b

*Notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya beda nyata (P<0.05), Nilai BNT = 0,02

Pada **Tabel 4.** Nilai total asam tertinggi diperoleh yaitu pada rentang waktu hingga hari ke-2 dengan adanya penambahan starter bakteri, lalu terjadi

penurunan setelah hari ke-2 hingga hari ke-6. Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa produksi asam optimal dihasilkan pada rentang hari ke-0 hingga ke-2, hal ini disebabkan bakteri dalam masa pertumbuhan dan menghasilkan asam laktat pada rentang waktu fermentasi 12 hingga 48 jam. Proses menghasilkan asam laktat oleh setiap BAL berbeda-beda, dimana asam laktat yang dihasilkan dipengaruhi oleh substrat, nutrisi, dan suhu yang dibutuhkan oleh bakteri asam laktat tersebut. Penurunan total asam setelah hari ke-2 hingga hari ke-6 disebabkan karena BAL melakukan metabolisme asam laktat menjadi CO_2. Kandler (1983) mengatakan bahwa asam laktat sebagai produk akhir fermentasi dapat dimetabolisme lebih lanjut menjadi asetat dan CO_2. Pada metabolisme asam laktat dapat dikonversi ke beberapa produk lain bergantung pada kondisi pertumbuhan dan sifat tertentu bakteri. Pada kondisi anaerobik, beberapa piruvat dapat dioksidasi menjadi CO_2.

KESIMPULAN

1. Penambahan starter bakteri *Pediococcus acidilactici* tidak mempengaruhi kadar protein terlarut ekstrak cacing tanah
2. Variasi waktu fermentasi memberikan pengaruh nilai terbaik protein terlarut ekstrak cacing tanah yaitu pada hari ke-2 sebesar 2,48%.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada BNBP FTP UB yang telah memebeikan dana untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Andarti, K.Y., & Wardani, A.K. 2015. **Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia, Mikrobiologi, Dan Organoleptik *Miso* Kedelai Hitam (*Glycine max* (*L*))**. *Jurnal Pangan dan Agroindustri, 3: 889-898*

Cintas, L.M., Rodriguez, J.M., Fernandes, M.F., Sletten, K., Nes, I.F., Hernandez, P.E., and Holo, H. 1995. ***Isolation and Characterization of Pediocin L50, a New Bacteriocin from Pediococcus acidilactici with a Broad Inhibitory Spectrum*.** Journal of Applied and Enviromental Microbiology, 61: 2643-2648.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, A. B., Christensen, A.B., and Givskov, A.B. 2002**.** ***Food Spoilage Interaction Between Food Spoilage Bacteria.*** *Jurnal of Food Microbiology*. 78: 79–97.

Handajani, H., Sri D. H., dan Sujono. 2013. **Penggunaan Berbagai Asam Organik dan Bakteri Asam Laktat terhadap Nilai Nutrisi Limbah Ikan**. Jurnal Depik, 2: 126-132.

Hayati, N., Herdian, H., Damayanti, E., Istiqomah, L., dan Julendra, H. 2011. **Profil Asam Amino Ekstrak Cacing Tanah (*Lumricus rubellus*) Terenkapsulasi dengan Metode *Spray Drying***. Jurnal teknologi Indonesia, 34 : 1-7

Kandler, O. 1983. ***Carbohydrate Metabolism in Lactic Acid Bacteria*.** *An* tonie van Leeuwenhoek, 49 : 209-224.

Kusmarwati, A., Heruwati, E.S., Utami, T., dan Rahayu, E.S. 2011. **Pengaruh Penambahan *Pediococcus acidilactici* F-11 Sebagai Kultur**

Starter Terhadap Kualitas Rusip Teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal* Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 6: 13-26.

Muliati, K., Harjiani, N., Widyatno, T.V. 2014. **Potensi Enzim Protease dari *Pediococcus pentosaceus* Sebagai Pengempuk dan Gambaran Histologis Daging**. Veterinaria Medika 7: 241 – 247.

Nendissa, J. 2013. **Pengaruh Penambahan *Pediococcus Acidilactici* F11 Sebagai Kultur Starter Terhadap Kualitas Ikan Asin (*Ina Sua*) Bae (*Lutjanus malabaricus*).** Jurnal Ekosains, 2: 39-46

Pollack, R.A., L. Findlay, W. Mondschein and R.R. Modesto. 2005. ***Laboratory Exercises in Microbiology***. Second Edition. John Wiley and Sons, Inc : New Zaeland. pp. 44-45.

Palungkun, R. 2010. **Usaha Ternak Cacing Tanah Lumbricus rubellus.** Penebar Swadaya. Jakarta

Stone, A.K., Karalash, A., Tyler, R.T., Warkentin, T.D and Nickerson, M.T. 2015. ***Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars***. Food Research International 76: 31–38.

Sutarma, 2000. **Kultur Media Bakteri**. Prosiding Temu Teknis Fungsional Non Peneliti : Balai Penelitian Veteriner.