

# Penurunan Nilai pH pada Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* di dalam Media yang Mengandung D-tagatosa dan D-fruktosa

## *The change in pH on the Lactobacillus bulgaricus bacteria Containing D-tagatose and D-fructose*

Dewi Indah Sari<sup>1\*</sup>, Anang Mohamad Legowo<sup>1,2</sup>, Ahmad Ni'matullah Al-Baarri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>2</sup>Laboratorium Teknologi Pangan, UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang

\*Korespondensi dengan penulis ([albari@undip.ac.id](mailto:albari@undip.ac.id))

Artikel ini dikirim pada tanggal 28 Maret 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 31 Desember 2022. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui [www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan](http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan). eISSN 2597-9892. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis nilai pH pada pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* pada medium yang mengandung 3% (b/v) D-tagatosa dan D-fruktosa. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C dan diukur selama 48 jam. Medium MRS broth juga digunakan sebagai pembanding. Berdasarkan penelitian ini dapat diketahui bahwa penurunan pH pada medium D-tagatosa dan D-fruktosa sebesar 4-5% sedangkan penurunan sebesar 32% terjadi pada media MRS broth. Penelitian ini dapat bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai potensi D-tagatosa dan D-fruktosa sebagai medium yang dapat mempertahankan penurunan pH.

Kata kunci: *Lactobacillus bulgaricus*, pH, D-tagatosa, D-fruktosa,

### Abstract

*This study aims to analyze the pH value on Lactobacillus bulgaricus medium containing 3% (w/v) D-tagatose and D-fructose. The incubation was conducted at 37°C. Changes in pH values were measured for 48 hours. The MRS broth medium was also used as a comparison. Based on this research it can be seen that D-tagatose and D-fructose medium decreased pH at a range 4-5% while MRS broth decreased 32%. This research might be useful to provide information on the potential of D-tagatose and D-fructose as a medium to maintain the reduction in pH.*

Keywords: *Lactobacillus bulgaricus*, pH, D-tagatose, D-fructose,

### Pendahuluan

Perkembangan bidang mikrobiologi terus berkembang dan semakin bervariasi peruntukannya. Bakteri *L. bulgaricus* merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat (BAL) yang membantu proses fermentasi sehingga menghasilkan produk makanan fungsional yang mampu disimpan dalam jangka panjang (Michaylova *et al.*, 2018). Bakteri ini dinilai unik karena memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap substrat terutama jenis gula (Rokop *et al.*, 2015). Faktor yang mempengaruhi produksi bakteri ini penting untuk dikendalikan dengan cara mempelajari efek parameter proses pada kinetika pertumbuhan dan keadaan fisiologis bakteri (Wulan *et al.*, 2017). Di antara semua parameter proses, pH dan temperatur merupakan faktor kunci yang sangat mempengaruhi fisiologis keadaan BAL (Utama dan Tampoebolon 2014; Ai *et al.*, 2017). Disamping itu, jenis substrat yang berupa gula juga sangat berpengaruh terhadap perkembangan populasi bakteri asam laktat (Moriya *et al.*, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pH medium yang diinokulasi bakteri *L. bulgaricus* setelah ditambah dengan D-tagatosa atau D-fruktosa sebagai alternatif substrat gula. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi mengetahui perubahan pH setelah penambahan D-tagatosa dan D-fruktosa.

### Materi dan Metode

#### Materi

Bahan yang digunakan adalah *L. bulgaricus* ATCC 4356 diperoleh dari LPPT Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. D-tagatosa dan D-fruktosa diperoleh dari Rare Sugar Research Center, Kagawa, University Jepang yang sudah tersedia di Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, serta bahan lainnya yang sesuai dengan standar reagen.

#### Metode

##### Peremajaan *L. bulgaricus*

Proses penyegaran strain *L. bulgaricus* mengacu pada metode yang dilakukan oleh Himawan *et al.*, (2017) dengan modifikasi yaitu strain *L. bulgaricus* sebanyak 1 ml dimasukkan dalam 9 ml medium MRS broth kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Proses peremajaan ini dilakukan sebanyak 2 kali untuk mendapatkan kultur bakteri yang siap digunakan untuk penelitian.

##### Pembuatan medium D-tagatosa dan D-fruktosa

Pembuatan medium D-tagatosa dan D-fruktosa dilakukan dengan mengacu pada metode Torres dan Batista, (2019) dengan modifikasi yaitu D-tagatosa dan D-fruktosa sebanyak 3% kemudian dilarutkan dalam 0,88% NaCl fisiologis yang telah steril dengan perbandingan 1:9. Larutan disaring dengan membran *filter* ukuran 0,2 µm yang kemudian digunakan sebagai medium pertumbuhan bakteri. Kultur *L. bulgaricus* kemudian di inokulasikan sebanyak 1% kedalam medium yang berisi 3% D-tagatosa dan D-fruktosa steril. Perbandingan yang digunakan adalah 1:9; yaitu 1 ml kultur bakteri dan 9 ml

medium D-tagatosa atau D-fruktosa. Selanjutnya medium diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C kemudian dilakukan perhitungan jumlah populasi pertumbuhan bakteri dengan metode TPC.

#### Pengujian Nilai pH

Pengujian pH dilakukan mengacu pada metode Yoshihara *et al.*, (2016) yaitu 5 ml medium D-tagatosa dan D-fruktosa yang telah terisi *L. bulgaricus* kemudian pengujian dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan buffer pH 4 dan 7 serta dilakukan pada jam inkubasi ke- 0, 24 dan 48.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh dijelaskan pola perubahannya dan dibandingkan dengan pustaka yang terdekat dengan topik secara deskriptif dengan menggunakan software Graphpad® dan Microsoft Excel.

#### Hasil dan Pembahasan

##### Nilai pH pada Pertumbuhan *L. bulgaricus*

Hasil pengukuran pH pada medium yang berbeda dapat diketahui bahwa selama waktu inkubasi sampai dengan 48 jam, terjadi penurunan pH pada media D-tagatosa dari  $3,70 \pm 0,07$  menjadi  $3,57 \pm 0,07$ , sedangkan nilai pH pada media D-fruktosa tampak menurun dari  $3,58 \pm 1,22$  menjadi  $3,38 \pm 1,15$ . Penurunan pH tersebut adalah sebesar 4-5% yang menunjukkan adanya aktivitas bakteri *L. bulgaricus* dalam merombak substrat sehingga menghasilkan asam-asam organik selama waktu inkubasi (Albright *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Legowo *et al.*, 2013), bakteri *L. plantarum* mampu menghasilkan pH sebesar 3,60-3,75 pada proses perombakan substrat. Penurunan pH sebesar 5% merupakan fenomena yang wajar jika terjadi pada proses fermentasi bakteri asam laktat (Ho *et al.*, 2015), namun kondisi pH ini akan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis media, temperatur, kondisi kultur dan keberadaan garam (Ai *et al.*, 2017). Kedua gula tersebut menunjukkan adanya sedikit perbedaan penurunan pH yaitu sebesar 1% dimungkinkan karena adanya kesamaan sifat metabolisme antara media D-tagatosa dan D-fruktosa dalam proses heterofermentatif (Vant *et al.*, 2021).

Nilai pH optimum untuk pertumbuhan *L. bulgaricus* adalah 5-6 (Rault *et al.*, 2009). Keberadaan pH optimum tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri karena proses penurunan pH akan menaikkan aktivitas enzim (Woo *et al.*, 2014). Enzim dibutuhkan bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri (Sarnia *et al.*, 2017). Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka dapat menurunkan kerja enzim-enzim sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri (Lizayana *et al.*, 2016). Selain pH, faktor pendukung pertumbuhan bakteri asam laktat adalah medium glukosa (Agustine *et al.*, 2018), oleh sebab itu, penelitian ini juga menggunakan MRS sebagai perbandingan jenis substrat pada medium pertumbuhan bakteri. MRS mengandung 3% (b/b) glukosa yang dinilai sama dengan konsentrasi penggunaan D-tagatosa dan D-fruktosa dalam penelitian ini, pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada medium MRS mampu menurunkan pH dari  $5,35 \pm 0,89$  menjadi  $3,62 \pm 1,95$  atau terjadi penurunan sebesar 32% selama waktu inkubasi 48 jam. Penurunan ini jauh lebih besar dari penurunan medium D-tagatosa dan D-fruktosa karena adanya kelengkapan nutrisi yang terdapat dalam MRS broth yaitu glukosa, nitrogen dan protein yang digunakan oleh *L. bulgaricus* untuk pertumbuhan (Sutrisna *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2019). Selain itu, adanya kandungan pepton dalam MRS mampu menyebabkan biomassa maksimum dan tingkat pertumbuhan spesifik (Aghababaie *et al.*, 2014).

Selama proses inkubasi 48 jam, maka medium pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* yang mengandung D-tagatosa dan D-fruktosa dapat menurunkan pH namun penurunan pH ini lebih besar terjadi pada media MRS broth.

#### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan pH pada medium D-tagatosa dan D-fruktosa sebesar 4-5%. Sementara itu, pada media MRS broth terjadi penurunan pH sebesar 32%.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah mendukung secara keseluruhan terhadap jalannya penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aghababaie, M., M. Beheshti and M. Khanahmadi. 2014. Original Article Effect of Temperature and pH on Formulating the Kinetic Growth Parameters and Lactic Acid Production of *Lactobacillus bulgaricus* 1(1): 49-56.
- Agustine, L., Y. Okfrianti, dan J. Jum. 2018. Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Dunia Gizi* 1(2): 79-83.
- Ai, Z., X. Lv., S. Huang., G. Liu., X. Sun., H. Chen and J. Sun. 2017. LWT - Food Science and Technology The Effect of Controlled and Uncontrolled pH Cultures on The Growth of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. *LWT -Food Science and Technology*. 77: 269-275.
- Albright, V., I. Zhuk., Y. Wang., V. Selin., Belt., B. V. De, H. J. Busscher and S. Sukhishvili. 2017. pH-triggering of Antibiotic

- Release University of Groningen and University Medical Center Groningen, Department of Biomedical. Acta Biomaterialia. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.08.012
- Cheng, F., H. Chen, N. Lei, M. Zhang, dan H. Wan. 2019. Effects of Carbon and Nitrogen Sources on Activity of Cell Envelope Proteinase Produced by LP69. Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology 23(1): 11-18.
- Himawan, H. C., R. H. B. Setiarto, dan N. D. Octavia. 2017. Uji Minuman Sari Pepaya (*Carica papaya*.) Probiotik Terhadap Kadar Kolesterol Total pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley. Jurnal Farmamedika (Pharmamedika Journal) 2(2): 63-69.
- Ho, V. T. T., J. Zhao and G. Fleet. 2015. The Effect of Lactic Acid Bacteria on Cocoa Bean Fermentation. International Journal of Food Microbiology 205: 54-67.
- Legowo, A. M., E. Abustam, A. Hintono, Y. B. Pramono, dan F. N. Yuliaty. 2013. Growth Ability of *Lactobacillus plantarum* Bacteria on The Chicken Egg White at Different Fermentation Time. Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan 3(1): 33-39.
- Lizayana., Mudatsir dan Iswadi. 2016. Densitas Bakteri pada Limbah Cair Pasar Tradisional. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi 1(1): 95-106.
- Michaylova, M., S. Minkova., K. Kimura., T. Sasaki and K. Isawa. 2018. Isolation and Characterization of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from Pplants in Bulgaria 269 160-169.
- Moriya, N., S. Hayakawa., K. Kuramasu., H. Ohmori., S. Yamasaki, and M. Ogawa. 2017. Effects of Rare Sugar D-allulose on Acid Production and Probiotic Activities of Dairy Lactic Acid Bacteria. Journal of Dairy Science 7(100): 5936-5944.
- Rault, A., M. Bouix and C. Be. 2009. Fermentation pH Influences the Physiological-State Dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-Controlled Culture 75(13): 4374-4381.
- Rokop, Z. P., M.A. Horton, and I. L.G. Newton. 2015. Interactions Between Cooccurring Lactic Acid Bacteria in Honey Bee Hives. Applied and environmental microbiology 81(20): 7261-7270.
- Sarnia, S., H. Natsir, dan S. Dali. 2017. Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitosanase dari Isolat Bakteri *Klebsiella sp.* Techno: Jurnal Penelitian 4(02): 08-15.
- Sutrisna, R., C. N. Ekowati, dan V. S. Agustin. 2017. Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dari Usus Itik Pada Media Pakan Dedak Padi Dan Kombinasi Dedak Padi Dengan Molases. Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH) 4(2): 7-14.
- Teusink, B and D. Molenaar. 2017. Systems Biology SystemsBiology of Lactic Acid Bacteria: For Food and Thought. Current Opinion in Systems Biology 6: 7-13.
- Torres, P., and F. Batista Viera. 2019. Production of D-tagatose and D-fructose from Whey by Co-immobilized Enzymatic System. Molecular Catalysis 463: 99-109.
- tama, C. S., dan B. I. M. Tampoebolon. 2014. Penambahan Berbagai Aras” Starter Fungsional” dalam Fermentasi Limbah Pabrik Pakan Terhadap Nilai Potensial Hidrogen (ph) dan Total Bakteri Asam Laktat (BAL). Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah 12(2): 95-100.
- Van Laar, A. D., C. Grootaert, dan J. Van Camp. 2021. Rare Mono-and Disaccharides as Healthy Alternative for Traditional Sugars and Sweeteners. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 61(5): 713-741.
- Wulan, R., A. Meryandini, dan T. C. Sunarti, 2017. Potensi Limbah Cair Industri Tapioka Sebagai Media Pertumbuhan Starter Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* E. 1222. Jurnal Sumberdaya HAYATI 3(1): 27-33.
- Woo, H. L., T. C. Hazen., B. A. Simmons and K. M. Deangelis. 2014. Enzyme Activities of Aerobic Lignocellulolytic Bacteria Isolated from Wet Tropical Forest Soils. Systematic and Applied Microbiology 37(1): 60-67.
- Yoshihara, A., T. Kozakai., T. Shintani., R. Matsutani., K. Ohtani., T. Iida. and P. K. Gullapalli. 2016. Purification and Characterization of D -allulose 3-epimerase Derived from *Arthrobacter Globiformis* M30, a GRAS microorganism. Journal of Bioscience and Bioengineering 20(20): 1-7.