

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL FERMENTASI MARKISA UNGU (*Passiflora edulis* var. Sims) SEBAGAI PENGHASIL EKSPOLISAKARIDA

Fatimatuz Zahro' (NIM. 10620051)

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
faza.shine07@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. Bakteri Asam Laktat dapat diisolasi dari buah-buahan dan sayuran, diantaranya buah Markisa ungu (*Passiflora edulis* var. Sims). Beberapa jenis BAL dapat mensintesis eksopolisakarida (EPS). Sifat fisiko-kimianya serupa dengan polisakarida dari tanaman sehingga banyak diaplikasikan pada industri makanan yang memiliki banyak efek kesehatan. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan bakteri asam laktat dari buah markisa ungu yang telah difermentasi sebagai penghasil eksopolisakarida.

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kualitatif untuk mengetahui adanya bakteri asam laktat dari buah markisa ungu terfermentasi sebagai penghasil eksopolisakarida meliputi karakteristik makroskopis, mikroskopis, identifikasi sampai tingkat spesies menggunakan Kit *Microbact* dan uji eksopolisakarida kasar dari isolat BAL asal fermentasi markisa ungu.

Hasil penelitian menunjukkan adanya bakteri asam laktat asal markisa ungu terfermentasi dan didapatkan 3 isolat dari genus *Lactobacillus*, yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus heterohiochii*. Produksi eksopolisakarida yang diperoleh adalah 1790-2183 mg/L. Produksi EPS yang diperoleh lebih tinggi dari isolat BAL komersial *Lactobacillus casei* yang memproduksi EPS sebesar 1470 mg/L.

Kata Kunci : Bakteri Asam Laktat, Markisa Ungu (*Passiflora edulis* var. Sims.), Eksopolisakarida

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are bacteria that are beneficial to health by improving the balance of intestinal microflora. Lactic acid bacteria can be isolated from fruits and vegetables, including purple Passion fruit (*Passiflora edulis* var. Sims). Several types of LAB can synthesize exopolysaccharide (EPS). Physico-chemical characteristics similar to polysaccharides of the plant so widely applied in the food industry that has many health effects. The purpose of this research was to obtain lactic acid bacteria of purple passion fruit fermented as producing exopolysaccharide.

This research was conducted accordance with the qualitative descriptive of lactic acid bacteria from fermented purple passion fruit as producing exopolysaccharide cover up microscopic characteristics, macroscopic characteristics, identification until species with Kit *Microbact* and crude exopolysaccharide test from isolates of LAB fermented purple passion fruit.

The results of research showed the presence of lactic acid bacteria fermented purple passion fruit obtained 3 isolates of the genus *Lactobacillus*, namely of species is *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus heterohiochii*. Exopolysaccharide production obtained is 1790-2183 mg/L. EPS production obtained higher than commercial LAB isolates of *Lactobacillus casei* which produces EPS of 1470 mg/L.

Keywords : Lactic Acid Bacteria, Purple Passion Fruit (*Passiflora edulis* var. Sims.), Exopolysaccharide

PENDAHULUAN

Makanan siap saji saat ini banyak dikonsumsi masyarakat. Efek negatif yang ditimbulkan adalah tidak lancarnya proses pencernaan yang diantaranya karena kurangnya serat dan tidak seimbang gizi yang terkandung di dalamnya, sehingga sering terjadi gangguan-gangguan pada saluran pencernaan yang mengakibatkan meningkatnya berbagai macam penyakit degeneratif. Kesadaran akan besarnya hubungan antara makanan dan kemungkinan timbulnya penyakit, telah mengubah pandangan bahwa makanan juga untuk memelihara dan menunjang kesehatan.

Salah satu pemanfaatan makhluk ciptaan Allah SWT yang baik untuk kesehatan adalah dengan menggunakan mikroba yang memiliki kemampuan sebagai probiotik dan memberikan manfaat fungsional bagi tubuh manusia. Probiotik seperti bakteri asam laktat dapat mengurangi produksi racun dan menurunkan produksi amonium dalam saluran pencernaan. Alternatif yang dapat dilakukan salah satunya adalah dengan mengonsumsi makanan yang mengandung suatu komponen tertentu dan dapat memberikan efek positif bagi kesehatan tubuh.

Bakteri asam laktat (BAL) sering ditemukan pada produk berbasis susu. Mulai dari berbagai jenis susu dari jenis yang berbeda hingga pada berbagai macam produk fermentasi susu, seperti dari susu kuda sumbawa (Sujaya *et al.*, 2008), susu kambing segar (Ernawati, 2010), susu kambing peranakan etawa (Fitria dan Ardyati, 2014), ASI (Dewi, 2012), dadih atau susu kerbau fermentasi khas Sumatera Barat (Trisna, 2012; Depson, 2012), yogurt komersial (Umam dan Manab, 2007; Nuryady *et al.*, 2013), susu formula balita (Indriyati, 2010), dan lain sebagainya.

Selain pada produk fermentasi susu, bakteri asam laktat (BAL) banyak dijumpai pada berbagai bahan hasil pertanian. Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-buahan dan sayuran seperti gandum, beras, singkong (Reddy, 2008), limbah kedelai (Malik, 2008), asinan buah dan sayur (Kusumawati, 2003), minuman dan buah (Plessis, 2004), pepaya, salak (Kurniawan, 2005), durian, nanas, cacao, pisang (Nurhayati, 2011), mangga, tomat, kubis, selada, kacang panjang, dan lain sebagainya adalah potensial sebagai sumber Bakteri Asam Laktat (Noordiana, 2013). Beberapa BAL yang

berhasil diisolasi dari makanan fermentasi diantaranya adalah cabai rawit (Rustan, 2013), asinan sawi (Rachmawati, 2005) dan juga markisa kuning (Sari, 2013) sebagai penghambat bakteri patogen.

Selain markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*), terdapat pula dua jenis markisa lain yang sejenis atau dalam satu spesies namun berbeda varietas, yaitu markisa asam atau yang biasa disebut markisa merah dan markisa ungu. Markisa ungu (*Passiflora edulis* var. *Sims.*), seperti halnya markisa kuning juga mengandung beberapa nutrisi yang baik untuk tubuh. Rukmana (2003) mengatakan bahwa buah dari *Passiflora edulis* var. *Sims.* ini merupakan salah satu dari makanan berserat.



Gambar 1. Markisa Ungu

Beberapa jenis BAL dapat mensintesis *Extracellular polysaccharide* atau eksopolisakarida (EPS), yang merupakan polimer polisakarida yang disekresikan oleh mikroba keluar sel. Eksopolisakarida yang dihasilkan mikroorganisme banyak digunakan pada industri, karena menurut Zubaidah (2008), sifat fisiko-kimianya serupa dengan polisakarida dari tanaman (selulosa, pektin dan pati) dan rumput laut (alginat dan karaginan). Eksopolisakarida juga berperan dalam rasa di mulut, tekstur, dan persepsi rasa dari produk fermentasi. EPS juga banyak diaplikasikan pada industri makanan sebagai pengental sehingga meningkatkan tekstur, viskositas dan sifat reologi produk. Selain itu, EPS memiliki efek kesehatan karena mempunyai aktivitas imunostimulator, antitumor dan aktivasi makrofag serta limfosit untuk meningkatkan ketahanan tubuh. EPS juga merupakan probiotik karena disintesis oleh BAL.

Saat ini eksplorasi BAL penghasil EPS semakin meningkat karena kemampuan bakteri asam laktat mensintesis EPS dinilai penting bagi kesehatan. Beberapa fakta kesehatan berhubungan dengan kemampuan strain probiotik untuk menempel pada mukosa usus. EPS hasil produksi dari BAL dapat menempel

pada mukosa usus halus sehingga meningkatkan kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan (Madiedo, 2005). EPS berkontribusi pada kesehatan manusia karena memiliki aktivitas *anti tumoral*, *anti ulcer*, anti-inflamasi, anti-infeksi, dan meningkatkan sistem imun tubuh (*imunostimulator*). Di samping itu EPS bermanfaat sebagai penstabil dan pengental alami pada produk yogurt (Halim, 2013).

Sementara ini penelitian tentang kemampuan BAL menghasilkan EPS masih difokuskan hanya sebatas pada produk fermentasi berbasis susu, seperti dari yogurt komersial dan kultur-kultur indigenous (Ariga *et al.*, 1992; Umam dan Manab, 2007), susu fermentasi (Vuyst, 1998), keju cheddar (Lau *et al.*, 1991), kefir grains (Yokoi *et al.*, 1990), sedangkan produksi EPS oleh BAL dari produk selain susu diantaranya adalah dari makanan fermentasi (Ludbrook *et al.*, 1997), sari kurma dan sari murbei (Suryawira, 2011), sawi asin (Halim, 2013) dan lain sebagainya sehingga belum banyak diketahui berapa jumlah eksopolisakarida yang dihasilkan BAL pada fermentasi berbasis buah-buahan atau sayuran.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif yang disajikan secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopis, mikroskopis, identifikasi hingga tingkat spesies dan uji produktivitas eksopolisakarida kasar secara kualitatif dari isolat BAL asal fermentasi markisa ungu.

1. Tahap Fermentasi Markisa Ungu

Tahap pertama yang dilakukan adalah tahap fermentasi, dengan isi buah markisa ungu (*Passiflora edulis* var. Sims) dikeluarkan dan dibungkus dengan daun pisang, ditempatkan dalam wadah fermentasi, dikondisikan agar udara tidak masuk. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 72 jam (Sari, 2013).

2. Tahap Isolasi Bakteri Asam Laktat

Diambil 5 gram sampel markisa asam yang telah difermentasi dan dimasukkan ke dalam 45 mL MRS Broth, lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} , kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, sampel diencerkan menggunakan media pepton water di dalam tabung flakon hingga pengenceran 10^{-9} .

Setelah itu dilakukan proses *plating*, kultur dari pengenceran 10^{-8} dan 10^{-9} diinokulasikan pada media MRS Agar dengan metode gores, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan koloni ke dalam media MRS Agar secara gores dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Isolat murni yang telah dihasilkan disimpan pada media MRS Agar miring untuk perlakuan selanjutnya (Sari, 2013).

3. Tahap Karakterisasi Isolat BAL

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan identifikasi morfologi BAL dengan dua cara, yaitu identifikasi makroskopik dan mikroskopik yang dilakukan secara biokimia, mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Identifikasi makroskopik yang diamati adalah bentuk, warna, dan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada media MRS Agar, sedangkan identifikasi mikroskopik yaitu bentuk sel dan identifikasi fisiologis dengan uji gram, uji katalase dan uji endospora (Holt *et al.*, 1994).

4. Tahap Identifikasi BAL Tingkat Spesies

Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil menggunakan ose dan dilarutkan ke dalam 5 ml garam fisiologis 0,9% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen. Suspensi bakteri yang telah homogen ditetaskan kedalam sumur *Microbact* sebanyak 100 μl , untuk sumur Lysin, Omitin, dan H₂S ditambah dengan tetesan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian ditetaskan 2 tetes reagent Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur nomor 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur 12 dengan TDA sebanyak satu tetes. Uji fermentasi karbohidrat pada *Microbact* 12B, tanpa ada penambahan reagen, jika fermentasi positif menunjukkan warna kuning, sedangkan hasil negatif tidak ada perubahan warna tetap biru. Evaluasi hasil dibandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. (Oxoid, 2004).

5. Uji Produksi Eksopolisakarida Kasar

Isolat BAL asal markisa ungu ditumbuhkan dalam 25 mL MRSB. Dilanjutkan dengan pemisahan sel melalui proses

sentrifugasi dingin 4°C 5000 rpm 30 menit. Sel bakteri yang mengendap dibuang. Supernatan diambil 10 mL untuk perlakuan selanjutnya dan didiamkan selama semalam setelah ditambah aseton teknis sebanyak 20 mL (2x volume sampel). Tabung sentrifuge yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu, kemudian dilakukan proses sentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Eksopolisakarida kasar yang berada di dasar tabung dilarutkan dengan 10 mL aquades dan ditambah dengan asam trikloroasetat 80% sebanyak 250 µL untuk pengendapan dari protein yang tersisa dan didiamkan selama semalam. Dilakukan sentrifugasi kembali pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Pellet yang diperoleh dikeringkan pada suhu 100°C selama 15 menit dan ditimbang berat kering EPS beserta tabung. Berat tabung berisi EPS kemudian dikurangi berat tabung kosong sebelum perlakuan hingga didapatkan berat konstan, dimana selisih berat ± 0,02 mg (Halim, 2013).

6. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil identifikasi disajikan secara deskriptif kualitatif meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari masing-masing isolat bakteri asam laktat (BAL) yang telah diisolasi dari fermentasi markisa ungu (*Passiflora edulis* var. Sims) dan nilai eksopolisakarida kasar yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan didapatkan 3 isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari buah markisa ungu yang telah difermentasi. Tujuan dari fermentasi buah markisa ungu dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri asam laktat yang diduga sebagai penghasil EPS. Amalia (2012) dalam penelitiannya telah berhasil mengeksplorasi isolat BAL asal sawi asin sebagai penghasil EPS. Halim (2013) menguji potensi probiotik dari isolat BAL penghasil eksopolisakarida tinggi asal sawi asin.

Sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat adalah karbohidrat seperti gula-gula sederhana yang terdapat di dalam markisa ungu, yang selanjutnya diubah menjadi asam laktat. Kondisi anaerobik pada proses fermentasi ini mutlak

diperlukan agar fermentasi dapat berjalan dengan baik. Mikroorganisme tersebut yang kemudian memicu terjadinya fermentasi alami pada buah ini. Kehadiran protein dalam buah markisa juga dapat menyokong pertumbuhan mikroflora-mikroflora alami ini terutama bakteri asam laktat yang memerlukan sejumlah protein dalam pertumbuhannya. Menurut Buckle (1987), fermentasi asam laktat terjadi karena adanya aktivitas bakteri laktat yang mengubah glukosa menjadi asam laktat, sehingga jumlah bakteri asam laktat meningkat selama proses fermentasi berlangsung yang akan diikuti dengan penurunan pH.

2. Identifikasi Makroskopik

Identifikasi secara makroskopik dilakukan dengan cara memilih strain isolat yang berbeda setelah proses isolasi tahap pertama. Koloni yang diduga BAL berwarna putih hingga putih kekuningan, berbentuk bulat dengan tepian berwarna bening. Koloni bakteri asam laktat ditemukan berdasarkan perubahan warna media menjadi kuning muda (atau putih susu) di sekitar lokasi tumbuh koloni bakteri. Isolat bakteri asam laktat yang memiliki koloni yang sama dianggap sebagai 1 jenis (strain).

Menurut Holt *et al.*, dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1994), bakteri merupakan kelompok prokariotik karena belum memiliki organel-organel sel yang kompleks, sehingga terdapat perbedaan struktur pada dinding sel bakteri.

Tabel 4.1 Hasil Identifikasi Makroskopis BAL Asal Fermentasi Markisa Ungu

Isolat	Warna	Tepi	Elevasi
T1	Kekuningan	Enpitire	Umbonate
T2	Putih susu	Rata	Convex
T3	Putih susu	Rata	Convex

Hasil pengamatan secara makroskopik menunjukkan bahwa keseluruhan isolat yang diperoleh memiliki bentuk koloni bulat dengan warna putih hingga putih kekuningan, yang diduga merupakan kelompok bakteri asam laktat. Tepian koloni dari ketiga isolat berbentuk enpitire dengan elevasi koloni dari isolat T1 umbonate sedangkan isolat T2 dan T3 permukaannya convex, sehingga diduga bentuk permukaan koloni yang berbeda inilah yang menyebabkan berbedanya warna koloni saat diamati secara langsung. Bentuk koloni dari isolat T1 menyebar dan bergerombol, sedangkan bentuk koloni dari isolat T2 dan T3

menyebar serta memiliki diameter koloni yang lebih kecil.

3. Identifikasi Mikroskopik

Identifikasi mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan gram dan endospora serta uji katalase. Hasil identifikasi mikroskopik isolat BAL asal fermentasi markisa ungu tertera pada tabel 4.2 di bawah ini.

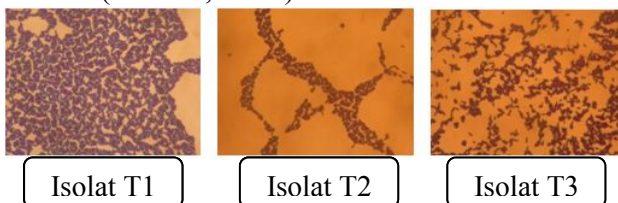
Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu (*Passiflora edulis* var. Sims) Secara Mikroskopik

Isolat	Jenis Gram	Katalase	Endospora
T1	+	-	-
T2	+	-	-
T3	+	-	-

Hasil fermentasi bergantung pada jenis substrat, jenis mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. BAL merupakan kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Genus bakteri yang tumbuh selama masa fermentasi berbeda. Berdasarkan hasil pewarnaan gram, uji katalase dan pewarnaan endospora, maka dapat dipastikan bahwa ketiga isolat adalah kelompok bakteri asam laktat.

3.1 Pewarnaan Gram dan Endospora

Hasil pewarnaan gram pada ketiga isolat bakteri asal fermentasi markisa ungu adalah positif, yaitu sel bakteri berwarna ungu setelah dilakukan pengecatan gram (gambar 2). Hal tersebut dikarenakan bakteri ini memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol yang menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna kristal violet yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel (Pelczar, 1986).



Isolat T1

Isolat T2

Isolat T3

Gambar 2. Hasil identifikasi mikroskopik

Tahap pewarnaan endospora juga dilakukan pada isolat ini meskipun sebenarnya pada pengamatan pewarnaan gram dapat dilihat bentuk sel bakteri dari isolat yang telah

diisolasi. Dari pengamatan tersebut dapat dilihat bahwa tidak ada ruang kosong dari sel bakteri yang tidak terwarnai pewarnaan gram, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat spora pada sel bakteri dari isolat bakteri asal fermentasi markisa ungu. Endospora tetap dapat dilihat di bawah mikroskop meskipun tanpa pewarnaan dan tampak sebagai bulatan transparan dan sangat refraktil. Namun jika dengan pewarnaan sederhana, endospora sulit dibedakan dengan badan inklusi (kedua-duanya transparan, sel vegetatif berwarna), sehingga perlu dilakukan teknik pewarnaan endospora.



Isolat T1

Isolat T2

Isolat T3

Gambar 3. Hasil Pewarnaan Endospora

Berdasarkan pewarnaan gram serta endospora menunjukkan bahwa jenis bakteri tersebut adalah jenis bakteri asam laktat. Hal tersebut sesuai dengan literatur milik Salminen (1998), Yousef (2003) serta Rustan (2013) yang mengatakan bahwa mikroba yang melakukan fermentasi pada produk fermentasi sayuran adalah dari jenis bakteri penghasil asam laktat.

3.2 Uji Katalase

Uji katalase yang dilakukan pada ketiga isolat BAL adalah negatif, ditandai dengan tidak adanya gelembung oksigen yang dihasilkan setelah ditetaskan larutan H_2O_2 . Menurut Raharjo (2012), bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri yang tidak memiliki enzim katalase, tetapi memiliki enzim peroksidase untuk mengubah H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O . Tidak seperti enzim katalase yang secara langsung megkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , enzim peroksidase membutuhkan reduktan seperti NADH untuk mengkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O .

3.3 Genus *Lactobacillus*

Identifikasi tingkat genus dapat diketahui dengan melihat bentuk sel serta susunan dari isolat bakteri yang ditemukan. Ketiga isolat dalam penelitian ini memiliki bentuk sel batang dengan susunan berantai, merupakan jenis gram positif, katalase negatif dan tidak memiliki spora. Sehingga diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Holt *et al.*, (1994) mengatakan

bahwa bakteri dalam genus *Lactobacillus* termasuk bakteri gram positif, tidak berspora, tidak motil, fakultatif anaerob, kadang-kadang mikroaerofilik, sedikit tumbuh di udara tapi bagus dalam keadaan di bawah tekanan oksigen rendah, dan beberapa anaerob pada isolasi. Dan genus yang ditemukan dalam fermentasi buah markisa ungu (*Passiflora edulis* var. Sims) ini adalah *Lactobacillus*. Ray (2001) menyatakan bahwa *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri yaitu selnya berbentuk batang dengan ukuran dan bentuk yang sangat beragam, beberapa bisa sangat panjang dan beberapa lainnya bersifat batang bulat. Munculnya pada bentuk sel tunggal atau pada rantai yang pendek sampai panjang, anaerob fakultatif, gram positif dan sebagian ada yang gram negatif, kebanyakan spesies tidak bergerak dan mesofilik.

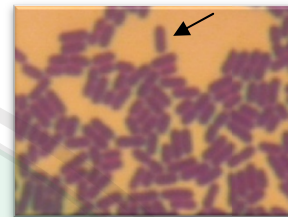
4. Identifikasi Tingkat Spesies

Berdasarkan hasil karakterisasi dan uji biokimia menggunakan Kit *Microbact* terhadap ketiga isolat menunjukkan adanya 2 spesies yang berbeda, dengan isolat T2 dan T3 teridentifikasi sebagai satu spesies yang sama. Isolat T1 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus heterohiochii* dan isolat T2 dan T3 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus bulgaricus*.

4.1 *Lactobacillus heterohiochii*

Hasil identifikasi dari isolat T1 ini menunjukkan hasil positif pada uji BGP. Pada fermentasi gula-gula yang dihasilkan nilai positif adalah fermentasi fruktosa dan glukosa, sedangkan pada fermentasi gula-gula yang lain seperti pada laktosa, maltosa, arabinosa dan lainnya memiliki hasil yang negatif. Pada uji NaCl 3%, 4%, 6,5% dan 10% memiliki hasil positif yang menunjukkan bahwa isolat ini mampu tumbuh pada NaCl. Uji pertumbuhan isolat bakteri pada media-media *Nutrient Broth*, MCA, TSI, Citrat, Indol, MR dan VP menunjukkan hasil negatif, yang artinya isolat ini tidak dapat tumbuh dalam media-media tersebut. Pada suhu pertumbuhan 25° C, 37° C isolat ini dapat tumbuh, sedangkan pada suhu 40° C dan 45° C isolat ini tidak dapat tumbuh. Sedangkan pada uji karakteristik menunjukkan hasil positif pada uji motilitas, proteolitik, amilolitik dan hasil negatif pada uji katalase, oksidase dan lipolitik. Berdasarkan hasil dari beberapa uji yang telah dilakukan didapatkan identifikasi isolat tersebut sebagai *Lactobacillus heterohiochii*.

Kandler (1983) dalam penelitiannya mengatakan bahwa strain bakteri jenis *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus heterohiochii* dan *Lactobacillus trichodes* menunjukkan homologi yang tinggi pada susunan DNA-DNANYa dengan sedikit pengecualian karakteristik fenotipik yang identik. Ketiga jenis strain bakteri ini sering dikenal dengan nama *Lactobacillus fructivorans*.



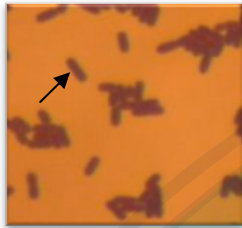
Gambar 4. *Lactobacillus heterohiochii*

Lactobacillus heterohiochii sering ditemukan dalam produk-produk fermentasi khas jepang, seperti “sake” dan “kimchi” atau pada “dressing salad”. Dicks dan Endo (2009) dalam penelitiannya mengatakan bahwa *Lactobacillus fructivorans* merupakan anggota dari genus *Lactobacillaceae* yang sering ditemukan dalam anggur, bir, susu, asinan sayur, daging dan ikan. *Lactobacillus fructivorans* juga ditemukan pada buah pisang (*Musa paradisiaca* formatypica) yang difermentasi spontan dalam aquades steril dengan menggunakan erlenmeyer dan ditutup secara aseptis (Nurhayati, 2011). *Lactobacillus fructivorans* juga ditemukan dalam saos tomat (Bjorkroth, 1997). Bahkan, spesies ini juga telah diisolasi dari usus ikan dan lalat buah *Drosophila melanogaster* (Picchiatti *et al*, 2007; Ren *et al*, 2007; Wong *et al*, 2011).

4.2 *Lactobacillus bulgaricus*

Hasil identifikasi dari isolat T2 dan T3 menunjukkan hasil yang sama pada semua pengujian yang dilakukan. Hasil positif didapatkan pada uji BGP. Pada fermentasi gula-gula nilai positif yang dihasilkan adalah pada fermentasi fruktosa, laktosa dan glukosa, sedangkan pada fermentasi gula-gula yang lain seperti pada maltosa, arabinosa dan lainnya memiliki hasil yang negatif (Lampiran 4). Pada uji NaCl 3%, 4%, 6,5% dan 10% memiliki hasil positif yang menunjukkan bahwa isolat ini mampu tumbuh pada NaCl. Uji pertumbuhan isolat bakteri pada media-media *Nutrient Broth*, MCA, TSI, Citrat, Indol, MR dan VP menunjukkan hasil negatif, yang artinya isolat

ini tidak dapat tumbuh dalam media-media tersebut. Pada suhu pertumbuhan 25° C, 37° C isolat ini dapat tumbuh, sedangkan pada suhu 40° C dan 45° C isolat ini tidak dapat tumbuh. Pada uji karakteristik menunjukkan hasil positif pada uji motilitas, proteolitik, amilolitik dan hasil negatif pada uji katalase, oksidase dan lipolitik. Berdasarkan hasil dari beberapa uji yang telah dilakukan didapatkan identifikasi isolat tersebut sebagai *Lactobacillus bulgaricus*.



Gambar 5. *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus secara luas digunakan dalam produksi produk susu fermentasi seperti yoghurt, keju dan krim disebabkan sifat-sifatnya yang menguntungkan secara teknologi, nutrisi dan khususnya terhadap kesehatan (Stanson *et al.*, 2001). Selain ditemukan pada buah markisa ungu terfermentasi, Sneath (1986) mengatakan bahwa *L. bulgaricus* sering ditemukan pada produk susu, daging dan ikan, air limbah, bir, anggur, buah-buahan, jus buah-buahan, sayuran fermentasi, acar, silase, adonan roti asam, dan bubur. Bakteri ini juga merupakan bagian normal flora pada mulut, traktus intestinal dan vagina hewan homothermik termasuk manusia.

Lactobacillus bulgaricus berperan dalam menghasilkan rasa khas dan tajam. *Lactobacillus* juga menghasilkan metabolit-metabolit yang menjadi sumber dan cita rasa yang spesifik dan substansi-substansi yang bersifat menghambat terhadap pertumbuhan mikroba yang tidak sesuai. Produk metabolik utama dari bakteri ini adalah asam laktat dan komponen aroma seperti asetildehid dan diasetil (Ray, 2003). *Lactobacillus bulgaricus* menghasilkan hidrogen peroksida (H₂O₂) dan senyawa penghambat yang disebut bulgarikan. Keberadaannya dapat mengawetkan produk dengan menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan serta meningkatkan keamanan produk pangan.

5. Uji Eksopolisakarida Kasar

Produksi EPS dari kultur mikroba tergantung pada sejumlah parameter yang

berbeda pada tiap spesies dan strain bakteri yang digunakan (Mozzi, 1995). Produksi EPS oleh sejumlah bakteri juga bergantung pada nutrisi medium terutama sumber karbon dan nitrogen, dan fase pertumbuhan (Petry *et al.*, 2000; Emtiazi *et al.*, 2004) serta suhu, pH, konsentrasi oksigen, sistem fisiologi bakteri (aerobik atau anaerobik) dan kondisi fermentasi (Pham *et al.*, 2000). Karena menurut Mozzi (1995) pembentukan polisakarida sering dihubungkan dengan sumber karbon berupa karbohidrat dan temperatur yang lebih rendah atau lebih tinggi dari pertumbuhan optimalnya. Eksopolisakarida dapat diisolasi dan saat ini telah terbukti dapat dijadikan sebagai imbuhan pangan dan mempunyai aktivitas antitumor.

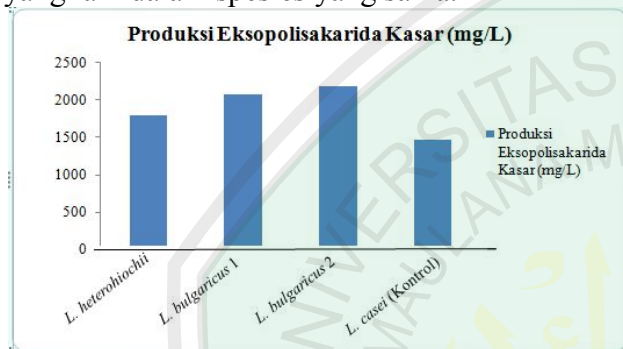
Tabel 4.5 Produksi EPS Kasar dari isolat BAL asal Fermentasi Markisa Ungu

Isolat	EPS Kasar
<i>Lactobacillus heterohiochii</i>	1790 mg/L
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> 1	2077 mg/L
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> 2	2183 mg/L
<i>Lactobacillus casei</i> (Kontrol)	1470 mg/L

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai eksopolisakarida (EPS) yang diperoleh oleh isolat BAL asal fermentasi markisa ungu lebih tinggi daripada isolat BAL komersial, yaitu *Lactobacillus casei*. Nilai EPS yang dihasilkan oleh isolat BAL komersial *L. Casei* pada perlakuan ini adalah 1470 mg/L, pada penelitian Halim (2013) menyebutkan bahwa produksi EPS dari *Lactobacillus casei* adalah 1340 mg/L. Sedangkan isolat T3 yang telah diidentifikasi menggunakan Microbact 12 merupakan *L. bulgaricus* 2 memiliki nilai EPS tertinggi yaitu 2183 mg/L. Isolat T2 yang merupakan *Lactobacillus bulgaricus* 1 memiliki nilai EPS tertinggi kedua, yaitu 2077 mg/L. Isolat T1 yang telah teridentifikasi merupakan *Lactobacillus heterohiochii* memiliki nilai EPS sebesar 1790 mg/L.

Isolat T2 dan T3 teridentifikasi sebagai spesies yang sama yaitu *Lactobacillus bulgaricus*. Namun, hasil eksopolisakarida yang diperoleh oleh kedua isolat berbeda. Hal ini mungkin dikarenakan berbedanya strain dari kedua isolat ini diakibatkan keragaman genetik yang terjadi di dalam buah markisa ungu terfermentasi yang merupakan tempat diambilnya bakteri-bakteri ini. Berbedanya strain bakteri berarti gen yang dibawa oleh kedua isolat ini juga berbeda, yang

mengakibatkan berbedanya proses metabolisme yang dilakukannya sehingga jumlah metabolit yang dihasilkan pun tidak sama. Pham *et al.*, (2000) mengatakan bahwa jumlah EPS yang diproduksi oleh spesies bakteri asam laktat yang berbeda adalah umumnya disebabkan oleh sifat bawaan/ genetik. Suryo (2012) mengatakan bahwa tiap gen mengawasi pembentukan, fungsi dan kemampuan suatu enzim tertentu, sehingga ketika ada gen yang berbeda, yang dalam hal ini dapat merupakan satu spesies namun berbeda strain, dapat mengakibatkan hasil akhir dari suatu proses metabolisme berbeda dengan strain yang lain dalam spesies yang sama.



Gambar 6. Grafik Produksi EPS Kasar

Produksi EPS dilakukan pada jam ke-24 yang merupakan fase stasioner atau fase stasioner akhir dari BAL. Hal ini dikarenakan EPS yang diproduksi oleh mikroba pada fase stasioner dapat dimanfaatkan kembali sebagai sumber karbon pada fase menjelang kematian karena adanya enzim yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri yang dapat mendegradasi EPS. Akibatnya perpanjangan waktu inkubasi akan menurunkan produksi EPS. Pham *et al.*, (2000) pada penelitiannya mengatakan bahwa selama fase pertumbuhan eksponensial awal biosintesis EPS tidak terjadi. Produksi terjadi pada fase stasioner menuju kematian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri asam laktat dalam buah markisa ungu (*Passiflora edulis* var. Sims) terfermentasi. Uji gram menunjukkan jenis gram positif dan endospora negatif serta uji katalase negatif dan didapatkan dua jenis bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*, yaitu isolat T1 yang telah diidentifikasi merupakan *Lactobacillus heterohiochii* dan isolat T2 dan T3 yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus bulgaricus*. Produksi EPS yang dihasilkan lebih tinggi dari

isolat BAL komersial *L. casei* yang memiliki nilai EPS sebesar 1470 mg/L. Produksi EPS tertinggi oleh *L. bulgaricus 2* sebesar 2183 mg/L, kemudian *L. bulgaricus 1* sebesar 2077 mg/L dan 1790 mg/L oleh *L. heterohiochii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnes, Evelyn C., 1961. Nutritional studies on *Lactobacillus heterohiochii*. *Journal Bacteriol*: 147-153
- Bjorkroth, k. Johanna and Hannu J. Korkeala. 1997. *Lactobacillus fructivorans* Spoilage of Tomato Ketchup. *Journal of Food Protection*. Vol. 60 (5), Pages 505 - 509
- Brizuela, Maria, A. Paulina S. dan Yovanka P. 2001. Studies on Probiotics Properties of Two *Lactobacillus* Strains. *Brazillian Archivers of Biology and Technology*. Vol. 44: 95-99
- Broadbent, J.R., D.J. McMahon, C.J. Oberg and D.L. Welker. 2001. Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy Journal*. 11: 433-439.
- Buckle, K. A. 1985. *Ilmu Pangan*. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Carl, S. P. 1971. *Microbiology and Food Fermentation*. The AVI Publishing Company Inc. Connecticut
- Cerning, J., Ch. Bouillanne, M. Landon, and M.J. Desmazeaud. 1990. Comparison of exocellular polysaccharide production by thermophilic lactic acid bacteria. *Sciences des Aliments*, 10: 443 - 451.
- Depson, Ronal. 2012. Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Potensial Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Dadih Terhadap Kolesterol Daging Itik Bayang Sumber Daya Genetik Sumatera Barat. ARTIKEL. Padang: Universitas Andalas
- Dewi, Sri Sinto dan Herliza Anggraini. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Asal Asi Terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu. *Seminar Hasil Penelitian*. LPPM Unimus 2012
- Dicks, L. M. T., and A. Endo. 2009. Taxonomic Status of Lactic Acid Bacteria in Wine and Key Characteristics to Differentiate Species. *S. African Journal Enol. Vitic*. Vol. 30. No. 1
- Duboc, P., and B. Mollet. 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Neth. Milk Dairy Journal*. 11: 759 - 768.
- Dwidjoseputro D. 2005. *Dasar - Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan
- Emtiaz, G., Ethemadifar, Z. dan Habibi, M.H. 2004. Production of extracellular polymer in

- Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer. *African Journal Biotech* 3: 330-333.
- Ernawati. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kambing Segar*. SKRIPSI. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Fitria, Indah Nur dan Tri Ardyati. 2014. Skrining Bakteri Asam Laktat Asal Susu Kambing Peranakan Etawa Sebagai Penghasil Bakteriosin. *Jurnal Biotropika*. Vol. 2 No. 3
- Halim, Christine N dan Elok Zubaidah. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan*
- Hidayat, Nur, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit Andi
- Holt, J. G., Noel R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Lippincott William and Wilkins
- Hong, C and P. Shan-Shan. 2005. Bioremediation Potential Of Spirulina: *Toxicity and Biosorption Studies of Lead*. 3: 330-333
- Indriyati, Anita Setyorini. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Susu Formula Balita yang Berpotensi Menghasilkan Substansi Antimikroba. SKRIPSI. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga
- Kandler, O. 1983. Lactobacillus trichodes and Lactobacillus heterohiochii subjective synonyms of Lactobacillus fructivorans. *Journal of Systematic and Applied Microbiology*: 507-511
- Kusumawaty, Netty. 2003. *Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus Sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Mempertahankan Keseimbangan Mikroflora Feses dan Mereduksi Kolesterol Serum Darah Tikus*. TESIS. Bogor: Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor
- Ludbrook, K. A., C. M. Russel dan R. I. Greig. 1997. Exopolysaccharides Production from Lactic Acid Bacteria Isolated from fermented Food. *Journal Food Science*. Vol. 63 (3): 597-600
- Malaka, R dan E. Abustam. 2004. Effect of incubation condition on the growth characteristics and exopolysaccharide production by ropy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Buletin Penelitian Seri Hayati*. 7 (2): 105 – 109
- Malik, Amarila, Donna M. Ariestanti, Anandayu Nurfachtiyani dan Arry Yanuar. 2008. Skrining Gen Glukosiltransferase (GTF) Dari Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. *Makara Sains*. Vol. 12. No. 1: 1-6
- Mozzi, F., De Giori, G.S., Oliver, G and G. F. de Valdez. 1995. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei*. Influence of salts. *Michwissenschaft*. Vol. 50 (4): 186-188
- Mukherjee, Sritama, S. Ghosh, S. Sadhu, P. Ghosh dan T. K. Maiti. 2011. Extracellular Polysaccharide Production by a *Rhizobium* sp. Isolated from Legume herb *Crotalaria saltiana* Andr. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol. 10: 340-345
- Noordiana, N. Fatimah, A. B., dan Mun, A. S. 2013. Antibacterial Agents Produces by Lactic Acid Bacteria Isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp. *International Food Research Journal*. Vol. 20 (1): 117-124
- Nurhayati, Betty Sri Laksmi Jenie, Harsi D. Kusumaningrum dan Sri Widowati. 2011. Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa paradisiaca* formatypica). *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 12. No. 2: 210-225
- Nurmalinda, Azizah, Periadnadi dan Nurmiati. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigenus Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2 (1) : 8-13. ISSN: 2303-2162
- Nuryady, Moh. Mirza, Tifani Istiqomah, Rion Faizah, Syafiq Ubaidillah, Zainal Mahmudi dan Sutoyo. 2013. Isolasi dan Identifikasi bakteri Asam Laktat Asal Yoghurt. *Jurnal UNEJ*. Vol. 1 (5): 1-11
- Oxoid. 2004. *Microbact Identification Kits*. Jakarta: IKAPI
- Pelczar, MC, ECS Chan dan Krieg NR. 1993. *Microbiology Concepts and Applications*. McGraw-HM, Inc., New York
- Petry, S., S. Furlan, M.J. Crepeau, J. Cerning, and M. Desmazeaud. 2000. Factors affecting exocellular polysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grown in a chemically defined medium. *Appl. And Environment. Microbiol*. 66 (8): 3427 – 3431
- Pham PL, Dupont I, Roy D, Lapointe G, dan Cerning J. 2000. Production of Exopolysaccharides by *Lactobacillus Rhamnosus* And Analysis of Its Enzymatic

- Degradation During Prolonged Fermentation. *Appl Environ Microbiol.* 66 (6): 2302–2310
- Plessis HW, LMT Dicks, Pretorius IS, Lambrechts MG & Toit MD. 2004. Identification of lactic acid bacteria isolated from South African Brandy Base Wines. *International Journal Food Microbiology.* Vol. 91: 19-29
- Rachmawati, Intan, Suranto dan Ratna Setyaningsih. 2005. Uji Antibakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi Terhadap Bakteri Patogen. *Bioteknologi.* Vol. 2. No. 2: 43-48
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology.* CRC Press Boca Raton
- Roberts, I. S. 1995. Bacterial Polysaccharides in Sickness and in Health. *Microbiology.* Vol. 141: 2023-2031
- Rukmana, H, R. 2003. *Usaha Tani Markisa.* Yogyakarta: Kanisius
- Rustan, Ida Reskia. 2013. *Studi Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.).* SKRIPSI. Makassar. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar
- Salminen, S, Von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, De Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE dan Mattila-Sandholm T. 1998. A Review-Demonstration of Safety Probiotics. *International Journal Food Microbiology.* 44 (1-2): 93-106
- Sari, Yuni Nurisva M., Sumaryati Syukur dan Jamsari. 2013. Isolasi, Karakterisasi Dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Berpotensi sebagai Antimikroba Dari Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). *Jurnal Kimia Universitas Andalas.* Vol. 2. No. 2
- Skerman, V. B. D. 1959. *A Guide to The Identification of The Genera of Bacteria With Methods and Digests of generic Characteristics.* Baltimore: Willian and Wilkins Company, USA: 189-191
- Sneath, P.H.A, N.S. Mair, M.E. Sharpe, dan J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Vol 2. Baltimore: Williams and Wilkins
- Stamer, J. R. 1979. The Lactic Acid Bacteria: Microbe of Diversity. *Journal of Food Technology.* 33 (1): 60 - 65
- Stanson, C., G. Gardiner, H. Meehan, K. Collins, G. Fitzgerald, P.B. Lynch, dan R.P. Ross. 2001. Market potensial for probiotics. *Am. Journal Clinical Nutrition.* 73: 476S – 483S.
- Sujaya, I Nengah, Yan Ramona, Ni Putu Widarini, Ni PutuSuarini, Ni Made Utama Dwipayanti, Komang Ayu N, I Wayan Nursini. 2008. Isolasi dan Karakterisasi BAL dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner.* Vol 1(2)
- Suryawira, Y. M. 2011. Produksi Eksopolisakarida oleh Bakteri Asam Laktat pada Medium Sari Kurma dan Sari Murbei. SKRIPSI. Malang: Universitas Brawijaya
- Susilowati, Agustine, Aspiyanto dan Achmad Dinoto. 2011. Pemekatan Eksopolisakarida (EPS) dari Kultur Bakteri Usus Dalam Biomassa Sagu (*Metroxylon sp.*) Melalui Modul Membran Ultrafiltrasi Cross-Flow (UFCF). *Berk. Penelitian Hayati: 16 (185-193)*
- Sutherland, I.W. 1998. Microbial Exopolysaccharides-Structural Subtleties And Their Consequences. *Pure & Application Chemical.* Vol. 69 (9): 1911-1917
- Tallon R, P Bressollier dan MC Urdaci. 2006. *Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharides Produced by Lactobacillus plantarum EP56.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643409> (Diakses tanggal 24 Januari 2014)
- Trisna, Wahud Noor. 2012. Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Dadih Dari Kabupaten Sijunjung Terhadap kadar Kolesterol Daging pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatera Barat. ARTIKEL. Padang: Universitas Andalas
- Umam, Khotibul dan Abdul Manab. 2007. Seleksi Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida. *Jurnal Ternak Tropika.* Vol. 6. No. 2: 79-87
- Vuyst, L.D. P. Aspila, J. Renney, 1998. *Controlled Production of Functional Exopolysaccharides by Thermophilic Lactic Acid Bacteria to Obtain Uniform, High Quality Fermented Milk.* <HTTP://imol.vub.ac.be/IMDO/IMDO.html> (Diakses tanggal 24 januari 2014)
- Yokoi, H., Watanabe T., Fuji Y., Toba T. dan Adachi S. 1990. Isolation and Characterization of Polysaccharides-Producing bacteria From Kefir grains. *Journal Dairy Science.* Vol. 73: 1684-1689
- Yousef, A.E dan C. Clastrom. 2003. *Food Microbiology (A Laboratory Manual).* Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, Inc. Ohiosate University. USA. 223-224
- Zubaidah, Elok, Yusnita Liasari dan Ella Saparianti. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 9 No. 1: 59-68