

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PENGHASIL VITAMIN B₂ (RIBOFLAVIN)
DARI PRODUK FERMENTASI SAWI ASIN**

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana Teknologi Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret**

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan



**Oleh :
Ikrimah Nur Laily
H 0909042**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

commit to user
2013

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PENGHASIL VITAMIN B₂ (RIBOFLAVIN)
DARI PRODUK FERMENTASI SAWI ASIN**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

IKRIMAH NUR LAILY

H 0909042

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal: 11 Juli 2013

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Dewan Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

Rohula Utami, S.TP., MP
NIP. 19810306 200801 2 008

Esti Widowati, S.Si., MP
NIP. 19830505 200912 2 006

Ir. M.A Martina Andriani, M.S
NIP. 195005251986092001

Surakarta, 19 Juli 2013

Mengetahui

Universitas Sebelas Maret

Fakultas Pertanian

Dekan

Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, MS.
NIP. 195602251986011001

commit to user

KATA PENGANTAR

Puji dan syukuri penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. atas segala karunia, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Vitamin B₂ (Riboflavin) dari Produk Fermentasi Sawi Asin” dengan lancar. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh mahasiswa untuk mencapai gelar Sarjana Stratum Satu (S-1) pada program studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih atas bimbingan dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, MS. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta
2. Bapak Ir. Bambang Sigit A, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.
3. Ibu Rohula Utami, S.TP., MP. selaku Pembimbing Utama Skripsi yang telah memberikan banyak inspirasi, membimbing, dan memberikan solusi selama penulis menyusun skripsi ini.
4. Ibu Esti Widowati, S.Si., MP. selaku Pembimbing Pendamping Skripsi yang selalu memberikan wawasan baru, membimbing, dan memberikan solusi selama penulis menyusun skripsi ini.
5. Ibu Ir. M.A Martina Andriani, M. S. selaku Pembimbing Akademik yang selalu membimbing penulis selama masa perkuliahan.
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta atas segala bantuan selama masa perkuliahan penulis.
7. Bapak dan Ibuku tercinta yang selalu menjadi kekuatan dalam setiap langkah, dan dengan penuh cinta memberikan dukungan, selalu berdoa demi kelancaran penelitian penulis.

commit to user

8. Kedua adikku tersayang, Desy Rahmawati dan Azhar Nur Fauzi, atas segala keceriaan yang selalu diberikan kepada penulis tanpa perlu diminta.
9. Laboran beserta staff Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Ibu Liswardani, Bapak Slameto, dan Mbak Dinda yang telah banyak membantu selama penulis melaksanakan kegiatan penelitian
10. Laboran beserta staff Laboratorium Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Pusat, Mbak Diana, Bapak Hartono, dan Mas Lantip yang telah mengajarkan hal baru kepada penulis selama melaksanakan penelitian
11. Laboran beserta staff Laboratorium Biologi Tanah, Bapak Darsono yang banyak memberikan wawasan dan ilmu baru kepada penulis
12. Korti angkatan 2009 Yoga, Andri, dan Branca yang luar biasa, tanpa kalian tidak akan ada jarkoman informasi ter-*update* selama masa perkuliahan.
13. Teman-teman seperantauan seperjuangan Ajeng, Deri, Yaya, dan Dani yang menjadi tempat berbagi keluh kesah penulis jika rindu kampung halaman, serta menjadi teman seperjalanan “mudik” penulis.
14. Ganang Puji Santoso, yang selalu dapat menghidupkan semangat penulis.
15. Tim asisten praktikum Mikrobiologi Umum tahun 2011-2013 Mbak Ambar, Mbak Tuti, Mas Daniel, Eva, Khesia, Christy, Arifah, Retha, Geri, dan Latifah yang senantiasa memberikan ilmu dan wawasan baru dan bermanfaat mengenai dunia Mikrobiologi kepada penulis.
16. Teman-teman Tim Skripsi Mikrobiologi, Itok, Ririn, dan Wuri atas kerja sama dan bantuannya selama penelitian.
17. Teman-teman baikku, Opix, Maradong, Mita, Fidya, Tante Yulia, Fani, Rizal, Pepe, Arum, Hardhani, Paw, Uyun, Hasyim, yang senantiasa menemani dan membantu penulis selama penelitian, serta atas masukan-masukannya kepada penulis dari awal hingga akhir penelitian.
18. Seluruh teman-teman ITP angkatan 2009 yang tidak dapat disebut satu-persatu yang telah bersedia menjadi teman yang baik bagi penulis, tanpa kalian penulis tidak akan bisa menjadi seperti sekarang.
19. Semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini dan memberi dukungan dan doa bagi penulis untuk terus semangat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juli 2013

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
RINGKASAN	xi
SUMMARY.....	xii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
II. LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Sawi Asin	4
2. Bakteri Asam Laktat.....	7
2.1 Bentuk, Sifat, dan Klasifikasi Bakteri Asam Laktat	9
2.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat	13
3. Riboflavin.....	16
B. Kerangka Berpikir.....	21
C. Hipotesis	21
III. METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
B. Bahan dan Alat	
1. Bahan.....	23
2. Alat.....	23

commit to user

C. Tahapan Penelitian	
1. Isolasi dan Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat	
1.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat	24
1.2 Identifikasi Kandidat Isolat Bakteri Asan Laktat	25
2. Screening Produksi Riboflavin dari Isolat	26
3. Uji Kandungan Riboflavin	26
4. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Terpilih.....	26
D. Analisis Data.....	27
E. Pengamatan Parameter	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sawi Asin	29
B. Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat	30
C. Produksi Riboflavin dari Isolat Bakteri Asam Laktat	32
D. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Produksi Riboflavin Tertinggi	33
E. Konfirmasi Genus Bakteri Asam Laktat Produksi Riboflavin Tertinggi	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	37
B. Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi dalam Sawi Hijau.....	5
Tabel 2.2. Perbedaan karakteristik bakteri asam laktat berdasarkan genera	11
Tabel 2.3 Reaksi Flavoprotein	18
Tabel 3.1 Metode Analisis Isolasi BAL Penghasil Riboflavin dari Sawi Asin.	28
Tabel 4.1 Karakter Morfologi Koloni Isolat Bakteri Asam Laktat.....	30
Tabel 4.2 Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Sawi Asin.....	31
Tabel 4.3 Produksi Riboflavin dari Isolat Bakteri Asam Laktat.....	32
Tabel 4.4 Karakteristik Fenotip Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin Tertinggi dari Sawi Asin.....	33
Tabel 4.5 Perbedaan Karakteristik Genera Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Karakter Fenotip.....	35
Tabel 4.6 Karakter Koloni, Fenotip, dan Biokimia Isolat Terpilih.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Sawi Hijau (<i>Brassica juncea</i>).....	4
Gambar 2.2 Sawi Asin	6
Gambar 2.3 Pemecahan Glukosa oleh BAL Homofermentatif.....	8
Gambar 2.4 Pemecahan Glukosa oleh BAL Heterofermentatif.....	10
Gambar 2.5 Bagan pengamatan karakteristik umum BAL	15
Gambar 2.6 Identifikasi Penentuan Genera Bakteri Asam Laktat	16
Gambar 2.7 Rumus Bangun Riboflavin.....	17
Gambar 2.8 Perubahan Riboflavin Menjadi Bentuk Koenzim Aktif.....	17
Gambar 2.9 Biosintesis riboflavin oleh mikroorganisme	20
Gambar 2.10 Bagan Kerangka Berpikir Penelitian.....	22
Gambar 3.1 Bagan pengamatan karakteristik umum BAL	25
Gambar 3.2 Bagan Tahapan Penelitian.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

A.	Prosedur Uji	42
	1. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat	42
	2. Uji Kandungan Riboflavin	46
B.	Bahan Pewarna dan Reagen Mikrobiologis	47
	1. Pewarna Gram	47
	2. Malakit Hijau	47
C.	Hasil Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat dari Sawi Asin.....	48
D.	Hasil Pewarnaan Gram.....	50
E.	Hasil Pewarnaan Endospora.....	51
F.	Hasil Uji Katalase	52
G.	Hasil Pewarnaan Motilitas	53
H.	Hasil Analisis Riboflavin	54
I.	Perhitungan Jumlah Mikroba	57
J.	Karakterisasi Isolat	58

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PENGHASIL VITAMIN B₂ (RIBOFLAVIN)
DARI PRODUK FERMENTASI SAWI ASIN**

**IKRIMAH NUR LAILY
H 0909042**

RINGKASAN

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan metabolit, salah satunya adalah vitamin. Vitamin merupakan komponen mikronutrien esensial yang tidak dapat disintesis oleh manusia. Salah satu vitamin yang berperan penting dalam metabolisme energi manusia adalah vitamin B₂ atau riboflavin. Bakteri asam laktat banyak tersebar di alam, salah satunya adalah pada produk pangan fermentasi. Salah satu pangan fermentasi yang memiliki potensi eksplorasi bakteri asam laktat adalah sawi asin, karena pada pembuatan sawi asin proses fermentasinya terjadi secara spontan. Kegiatan isolasi dilakukan untuk mendapatkan biakan atau kultur murni dari kultur campuran yang terdapat pada sumber isolat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa kadar riboflavin yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari produk fermentasi sawi asin, mengetahui isolat yang menghasilkan riboflavin tertinggi, dan mengetahui karakteristik isolat bakteri asam laktat yang menghasilkan riboflavin tertinggi. Karakter morfologi koloni dan sel bakteri dianalisis secara kualitatif. Produksi riboflavin oleh bakteri asam laktat dianalisis menggunakan program SPSS 17.0. Karakteristik fenotip dari isolat terpilih dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian didapatkan bahwa didapatkan 10 isolat dari hasil isolasi bakteri asam laktat dari sawi asin dengan riboflavin tertinggi yang dihasilkan adalah sebesar 2,07 mg/L oleh isolat dengan kode ISA9. Karakter isolat penghasil riboflavin tertinggi adalah tumbuh pada konsentrasi garam 6,5%, suhu 10°C dan 45°C, pH 4,4, dan memiliki tipe fermentasi heterofermentatif. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat yang didapatkan termasuk dalam genera *Lactobacillus*.

Kata kunci :Bakteri Asam Laktat, Isolasi, Riboflavin, Vitamin

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF RIBOFLAVIN
PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA
FROM FERMENTED FOOD SAWI ASIN**

**IKRIMAH NUR LAILY
H 0909042**

SUMMARY

Lactic acid bacteria are microorganism which are capable to produce metabolites, such as vitamin. The vitamins are micronutrient compound which are cannot be biosynthesized by mammalian cells. Riboflavin or vitamin B₂ are an example of vitamin which are essential for the metabolism energy of human. Sawi asin which is belongs to fermented food has a good exploration potency to isolate lactic acid bacteria as the spontaneous fermented process. The aim of isolation to obtain the purified culture.

The aims of this research were to analyze concentration of riboflavin which is produces by lactic acid bacteria from sawi asin, to determine which strain produced the highest riboflavin, and to determine characteristic of isolate which is produced the highest riboflavin. Morphological characteristics colony and phenotype characteristics strain were analyzed by using descriptive qualitative method. Riboflavin producing lactic acid bacteria was analyzed by using SPSS 17.0. Ten strain of lactic acid bacteria were isolated from sawi asin. ISA9 produce 2,07 mg/L, as the highest riboflavin producing. The highest riboflavin producing isolat has phenotype characteristic which are can grow at concentration 6,5% NaCl, can grow at 10°C and 45°C, can grow at pH 4,4, and has heterofermentative fermentation type. The highest riboflavin producing strain isolated from sawi asin belongs to genera *Lactobacillus*.

Key word : Isolation, Lactic acid bacteria, Riboflavin, Vitamin