

Optimasi Suhu Dan Ph Pertumbuhan *Lactococcus Lactic* Isolat Ikan Kerapu

Subagiyo*, Ria Azizazh Tri Nuraeni, Wilis Ari Setyati, Adi Santoso

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang, Semarang 50275
Email: subagiyo.kelautan13@gmail.com

Abstract

Temperature and pH is one of the environmental factors that influence microbial growth, so it needs to be optimized in order to obtain optimum values for cell production. The experiments were performed using the medium of ROGOSA and Sharpe (MRS). The pH value is set with the addition of 1 N NaOH and 1N HCl to obtain a pH value of 4, 5, 6, 7, and 8. Optimization of temperature performed by incubation at 25, 30, 35 and 40 °C. Bacterial growth was measured by changes in optical density at 600 nm wave-length. The results showed that the initial pH of 7 is the initial pH value which produces the most rapid growth, while the initial pH 4 provides the slowest growth. Temperature that produces the most rapid growth is 30 and 35 °C while the temperature 40°C produce the slowest growth.

Keywords : *Lactococcus lactis*, temperature, pH, growth

Abstrak

Suhu dan pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrobia, sehingga perlu untuk dilakukan optimasi guna mendapatkan nilai-nilai yang optimum untuk produksi sel. Percobaan dilakukan menggunakan medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS). Nilai pH diatur dengan penambahan NaOH 1 N dan HCL 1N hingga diperoleh nilai pH 4, 5, 6, 7, dan 8.. Optimasi suhu dilakukan dengan inkubasi pada suhu 25, 30, 35 dan 40 °C . Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan perubahan optical density pada panjang gelombang 600 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH awal 7 merupakan nilai pH awal yang menghasilkan pertumbuhan yang paling cepat sedangkan pH awal 4 memberikan pertumbuhan yang paling lambat. Suhu yang menghasilkan pertumbuhan paling cepat adalah 30 dan 35 °C sedangkan suhu 40°C menghasilkan pertumbuhan yang paling lambat. Kecepatan agitasi yang menghasilkan pertumbuhan paling cepat adalah 100 rpm dan paling lambat 150 rpm.

Kata kunci : *Lactococcus lactis*, suhu, pH, pertumbuhan

PENDAHULUAN

Lactococcus memiliki status "GRAS" (generally recognized as safe) sehingga tidak berbahaya untuk kesehatan manusia dan hewan (Nuryshv *et al*, 2016). *Lactococcus* adalah bakteri gram positif, mikroaerofilik, homofermentatif, tumbuh pada suhu 10 °C tetapi tidak tumbuh pada suhu 45 °C, menghasilkan L(+) asam laktat dari glukosa. *Lactococcus* memiliki sel berbentuk bulat tampak secara individual, dalam pasangan atau

dalam rantai (Samaržija *et al*, 2001). Bakteri dari kelompok ini telah dikembangkan menjadi probiotik. Probiotik memiliki berbagai macam mekanisme kerja seperti produksi bakteriosin dan asam lemak rantai pendek, menurunkan pH saluran pencernaan, kompetisi nutrient dan stimulasi fungsi barrier dan immunomodulasi (Kechagia *et al*, 2013).

L. lactis sebagai probiotik telah dikaji oleh banyak peneliti (Monteagudo-Mera *et al*, 2012 ; Nuryshv *et al*, 2016; Gad *et al*,

*) Corresponding author
www.ejournal2.undip.ac.id/index.php/jkt

2016; Loh dan Ting, 2016; Nejadi dan Oelschlaeger, 2016).

Kajian bioproses untuk produk sel memerlukan penentuan nilai-nilai parameter pertumbuhan diantaranya adalah suhu dan pH. Suhu dan pH secara umum merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh pada pertumbuhan bakteri. Setiap spesies bahkan strain dapat memiliki nilai suhu dan pH optimum yang berbeda. Penelitian mengenai suhu dan pH pertumbuhan telah dilaporkan oleh Adamberg *et al*, (2003), Zaitseva *et al*, (2004). Pada penelitian ini ditentukan pengaruh suhu dan pH terhadap pertumbuhan *L. lactis* isolat ikan Kerapu.

MATERI DAN METODE

Media

Media yang akan digunakan untuk produksi sel adalah medium MRS (Tryptone (10.0 g/l), ekstrak khamir (5.0 g/l), Glukosa (20.0 g/l), K₂HPO₄ (2.0 g/l), sodium acetate (5.0 g/l), MgSO₄-7H₂O (0.2 g/l), MnSO₄-H₂O (0.05 g/l), ammonium sulfat (2.0 g/l), Tween 80 (1ml/l)).

Prosedur pengukuran pertumbuhan

Pertumbuhan bakteri ditentukan berdasarkan pengukuran OD pada A₆₀₀. Satu mL kultur BAL disentrifugasi untuk menghilangkan medium, kemudian dicuci dengan akuades steril dan disentrifugasi kembali untuk menghilangkan sisa medium yang masih ada, kemudian diukur OD nya pada A₆₀₀.

Penyiapan kultur

Kultur bakteri probiotik yang dipreservasi di dalam larutan gliserol dan skim milk pada suhu -80°C diaktifkan secara bertahap dengan cara memindahkannya ke suhu -20 °C dan suhu 5 °C (suhu refrigerator. Setelah itu baru dipindahkan ke medium MRS cair dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan sub kultur pada medium yang sama dan diinkubasi pada suhu kamar.

Optimasi suhu

Medium MRS dalam erlenmeyer diinokulasi dengan starter isolat yang memberikan OD 0,1 pada A₆₀₀. Inkubasi pada variasi suhu 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran OD pada A₆₀₀.

Optimasi pH

Medium MRS dalam erlenmeyer diinokulasi dengan starter isolat yang memberikan OD 0,1 pada A₆₀₀. pH awal medium diatur pada variasi 4 , 5 , 6 , 7 dan 8. Inkubasi selama 24 jam Selanjutnya dilakukan pengukuran OD pada A₆₀₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

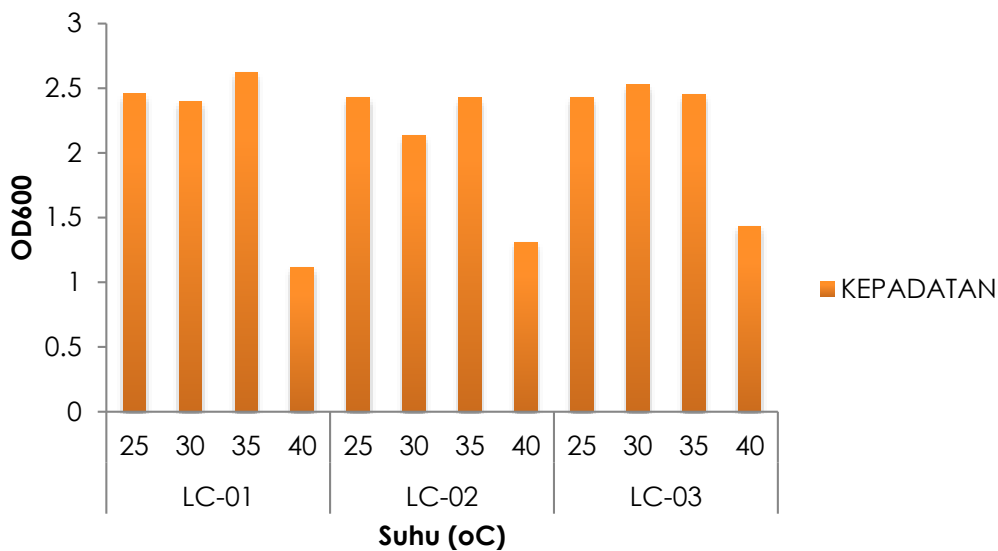
Suhu merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap laju pertumbuhan melalui mekanisme terkait dengan laju reaksi metabolisme dan stabilitas konformasi molekul-molekul fungsional. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energy kinetic rata-rata molekul reaktan sehingga menyebabkan peningkatan laju reaksi. Hal ini berlaku terhadap reaksi metabolisme. Metabolisme merupakan reaksi kimia yang terarah yang berlangsung didalam sel yang dikatalisis oleh enzim, maka reaksi enzimatik dipengaruhi oleh suhu. Suhu berpengaruh terhadap kinetika dan stabilitas molekul enzim (Thomas dan Scopes, 1998), sehingga aktivitas enzim bergantung pada suhu (Peterson *et al*, 2007). Menurut Daniel *et al* (2008) ada 2 hal terkait dengan pengaruh suhu terhadap enzim yaitu energy aktivasi dan stabilitas thermal. Pengaruh terhadap metabolisme selanjutnya akan berpengaruh pada pertumbuhan. Membre *et al* (2005) telah mengkaji pengaruh suhu terhadap laju pertumbuhan berbagai bakteri yaitu *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. Suhu optimum untuk pertumbuhan bervariasi antar spesies.

Pertumbuhan *L. lactis* pada penelitian ini bervariasi bergantung suhu

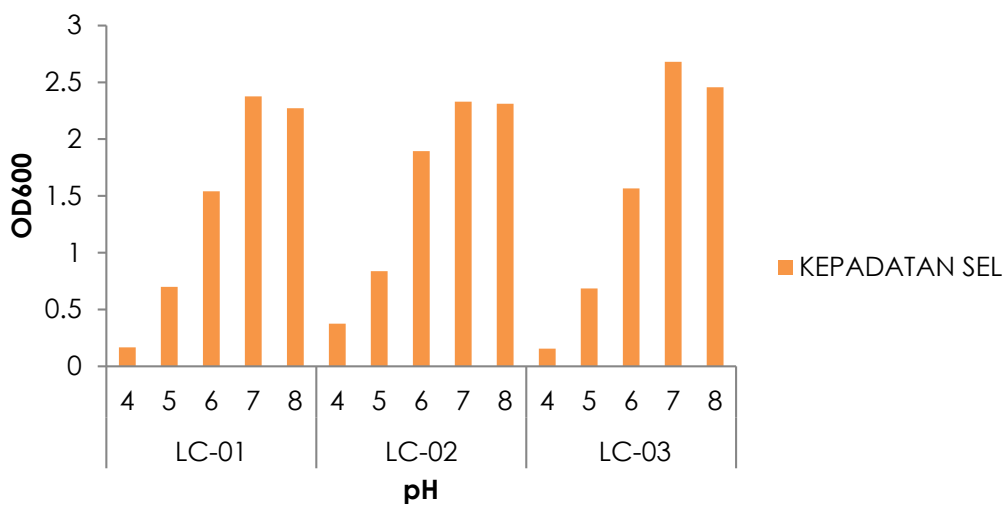
inkubasi. Berdasarkan hasil pengukuran (Gambar 1) tampak bahwa ke tiga isolat *L.lactis* menunjukkan pertumbuhan yang baik pada rentang nilai suhu 25-35 °C dan menunjukkan pertumbuhan yang lambat ada suhu 40 °C.

Suhu optimum yang berbeda pada tingkat strain menunjukkan adanya variabilitas pada tingkat strain. Fenomena ini telah direview oleh (Lianou dan Koutsoumanis, 2013). Ahmed *et al* (2006) melaporkan suhu optimum untuk pertumbuhan *L. lactis* 37-40 °C dan Aslam *et al*, (2012) melaporkan 37°C.

Nilai suhu bervariasi antar spesies ditunjukkan antara lain oleh *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 memiliki suhu optimum 34.5 °C (Messens *et al.* 2003), *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 42,3 °C (Van den Berghe *et al* (2006)). Variasi intraspesies ditunjukkan oleh laporan Calderón-Santoyo *et al* (2001) bahwa *Pediococcus acidilactici* ITV 126 memiliki suhu optimum untuk pertumbuhannya 40 °C., sedangkan Zhang *et al* (2012) melaporkan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan *P. acidilactici* PA003 adalah 35 °C.



Gambar 1. Pertumbuhan *L.lactis* pada berbagai nilai suhu



Gambar 2. Pertumbuhan *L. lactis* pada berbagai nilai pH

pH berpengaruh terhadap pertumbuhan melalui pengaruhnya terhadap derajat ionisasi asam amino basa dan asam. Jika derajat ionisasi asam amino dalam protein berubah maka ikatan ion yang ikut menentukan struktur 3 dimensi protein juga akan berubah. Perubahan struktur protein ini dapat menyebabkan gangguan fungsionalnya. Perubahan pada protein enzim akan menyebabkan perubahan pada pengenalan protein atau inaktivasi enzim. Perubahan pH tidak hanya menyebabkan perubahan bentuk enzim tetapi juga menyebabkan perubahan bentuk dan sifat muatan dari substrat. Sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan bagian aktif enzim atau tidak dapat dikatalisis.

Hasil pengukuran pertumbuhan pada berbagai nilai pH awal (Gambar 2) menunjukkan bahwa *L. lactis* tumbuh baik pada nilai pH awal 7-8, pertumbuhan yang lambat terjadi pada pH asam (4 dan 5). Hasil yang sama ditunjukkan oleh *Lactococcus piscium* CNCM I-4031 yang memiliki pH optimum pada nilai netral (Leroi et al, 2012). Hal ini berbeda dengan pernyataan O'sullivan dan Condon, (1997) bahwa pH optimal untuk pertumbuhan *Lactococcus* 6.3- 6, dan Hofvendahl et al, (1999) melaporkan pH optimum untuk lactococci dan lactobacilli berada di sekitar nilai 6, sedangkan Aslam et al, (2012) pH optimum pertumbuhan *L. lactis* adalah 5.0.

KESIMPULAN

Berdasarkan pertumbuhan (perubahan optical density /OD600) selama 24 jam menunjukkan *L. lactis* isolat ikan kerapu tumbuh baik pada rentang nilai suhu 25-35 °C dan nilai pH awal 7-8.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini Dibiayai dengan sumber dana PNBP DIPA Universitas Diponegoro Nomor : SP DIPA - 042.01.2.400898/2016, tanggal 7 Desember 2015, Tahun Anggaran 2016

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandra Lianou, Konstantinos P. Koutsoumanis, 2013, Strain variability of the behavior of foodborne bacterial pathogens: A review, *Int. J. Food Microbiol.*, 167: 310-321
- Ademberg K, Kask S, Laht TM, Paalme T (2003). The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. *Int. J. Food Microbiol.* 85: 171-183.
- Ahmed T, Kanwal R, Ayub N (2006). Influence of temperature on growth pattern of *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* isolated from camel milk. *Biotechnology*, 5(4): 481-486.
- Hofvendahl K, Van Niel EWJ, Hahn-Hagerdal B (1999). Effect of temperature and pH on growth and product formation of *Lactococcus lactis* spp. *lactis* ATCC 19435 growing on maltose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 669-672.
- Kim WS, Ren J, Dunn NW (2001). Assessment of the tolerance of *Lactococcus lactis* cells at elevated temperatures. *Biotechnol. Lett.* 23: 1141-1145.
- O'sullivan E., S. Condon, 1997, Intracellular pH Is A Major Factor In The Induction Of Tolerance To Acid And Other Stresses In *Lactococcus Lactis*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63:4210-4215
- Booth, I. R., 1985, Regulation Of Cytoplasmic pH In Bacteria, *Microbiological Reviews*, 49: 359-378.
- Jeanne-Marie Membré, J.M., B. Leporq, M. Viallette, E. Mettler, L. Perrier, D. Thuault, M. Zwietering, 2005, Temperature effect on bacterial growth rate: quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food, *Int. J. Food Microbiol.* 100:179-186
- Thomas, M.T., K. R. Scopes, 1998, The Effects Of Temperature On The Kinetics And Stability Of Mesophilic And Thermophilic 3-Phosphoglycerate Kinases, *Biochem. J.* 330 : 1087-1095

- Peterson, M.E., R. M. Daniel, M. J. Danson, R. Eiseenthal, 2007, The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters, *Biochem. J.* 402 :331-337
- Leroi, F., P. A. Fall, M. F. Pilet, F. Chevalier, R. Baron, 2012, Influence of temperature, pH and NaCl concentration on the maximal growth rate of *Brochothrix thermosphacta* and a bioprotective bacteria *Lactococcus piscium* CNCM I-4031, *Food Microbiology*, 31: 222–228
- Nuryshev, M. Z., L. G Stoyanova and A. I. Netrusov, 2016, New Probiotic Culture of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*: Effective Opportunities and Prospects, *J Microb Biochem Technol*, Volume 8(4): 290-295 (2016) – 290
- Gad,S.A., R. M. A. E-Baky, A. B. F. Ahmed and G. F. M. Gad, 2016, In vitro evaluation of probiotic potential of five lactic acid bacteria and their antimicrobial activity against some enteric and food-borne pathogens, *African J. Microbiol. Res.*10:400-409
- Monteagudo-Meraa, A., L. Rodríguez-Aparicioa, J. Ru´aa, H. Martínez-Blancoa, N. Navasaa, M. R. García-Armestob, M. A´. Ferrero, 2012, In vitro evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin, *J. Funtional Foods.* 4: 531-541
- Loh, J.Y.,A.S.Y. Ting, 2016, Effects of potential probiotic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on digestive enzymatic activities of live feed *Artemia franciscana*, *Aquacult. Int.* 24: 1341–1351.
- Nejati, F., T. A. Oelschlaeger, 2016, In Vitro characterization of *Lactococcus lactis* strains Isolated from Iranian Traditional Dairy Products as a Potential Probiotic , *Appl. Food Biotechnol.* 3 : 43-51
- Zaitseva, S.V., Kozyreva, L.P. & Namsaraev, 2004, The Effect of Temperature and pH on the Growth of Aerobic Alkalithermophilic Bacteria from Hot Springs in Buryatia, *B.B Microbiol.*73: 372.
- Adamberg K, Kask S, Laht TM, Paalme T. 2003, The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study, *Int J Food Microbiol.* 85:171-183.
- Samaržija, ., N. Antunac, J. Luka_Havranek, 2001, Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review, *Mljekarstvo* 51:35-48,