

EKSPLORASI BAKTERI ASAM LAKTAT KANDIDAT PROBIOTIK DAN POTENSINYA DALAM MENGHAMBAT BAKTERI PATOGEN

RAHMIATI

*Fakultas Biologi, Universitas Medan Area
Medan-Sumatera Utara
amirahmiati0405@gmail.com*

MUGI MUMPUNI

*Fakultas Biologi, Universitas Medan Area
Medan-Sumatera Utara
mugi_mumpuni@yahoo.com*

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat potensial bakteri asam laktat kandidat probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Terdapat 3 tahap dalam penelitian yaitu isolasi, karakterisasi dan uji potensi bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri patogen. Sumber isolat bakteri asam laktat diperoleh dari susu fermentasi, sawi fermentasi dan saluran pencernaan ikan. Tiga jenis bakteri patogen yang digunakan meliputi: *Escherichia coli*, *Salmonella thypii* dan *Sghigella dysentriae*. Ketiga jenis bakteri ini mewakili bakteri yang umum menyerang saluran pencernaan. Enam isolat bakteri asam laktat berhasil diisolasi dari 3 jenis sampel berbeda. Isolat tersebut adalah BAL01, BAL02, BAL03, BAL04, BAL05 dan BAL06. Kemampuan antagonis masing – masing isolat berbeda dalam menghambat bakteri patogen. Isolat BAL01 DAN BAL02 mampu menghambat *E. coli* dengan zona hambat sebesar 9.25 mm. Isolat BAL02 mampu menghambat *S. Thypii* dengan zona hambat sebesar 8.5 mm. Sedangkan zona hambat terbesar dalam menghambat *S. dysentriae* ditunjukkan oleh isolat BAL03 yaitu sebesar 11 mm.

Kata kunci : bakteri asam laktat, probiotik, antimikroba, zona hambat

ABSTRACT : This study aims to obtain potential isolates of probiotic candidate capable of inhibiting the growth of pathogenic bacteria. There are 3 stages in the research that is isolation, characterization and test the potential of lactic acid bacteria in inhibiting pathogenic bacteria. Sources of lactic acid bacteria isolates were obtained from fermented milk, fermented mustard and fish digestive tract. Three types of pathogenic bacteria used include: *Escherichia coli*, *Salmonella thypii* and *Sghigella dysentriae*. These three types of bacteria represent bacteria that commonly attack the digestive tract. Six isolates of lactic acid bacteria were isolated from 3 different samples. The isolates are BAL01, BAL02, BAL03, BAL04, BAL05 and BAL06. The antagonistic ability of each isolate differs in inhibiting pathogenic bacteria. Isolates BAL01 AND BAL02 are able to inhibit *E. coli* with an inhibitory zone of 9.25 mm. Isolate BAL02 is able to inhibit

S. Thypii with an inhibit zone of 8.5 mm. While the largest inhibition zone in inhibiting *S. dysenteriae* is shown by isolate BAL03 which is 11 mm.

Keywords: lactic acid bacteria, probiotic, inhibition zone

1. Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri anaerob fakultatif yang mampu hidup pada berbagai habitat yang cukup luas di alam seperti pada tanaman, saluran pencernaan hewan dan manusia, pada produk makanan kalengan, produk susu, produk fermentasi, buah-buahan dan sayur-sayuran tropis (Utami, 2011). BAL telah digunakan sebagai pengawet makanan, kultur fermentasi dan pangan probiotik karena mempunyai aktivitas antimikroba dan pembusuk makanan. BAL mampu memproduksi asam organik, metabolit primer dan menurunkan pH lingkungannya dengan mengekresikan senyawa yang mampu menghambat bakteri patogen (Vuyst & Vandamme, 1994). Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber antara lain dari susu hasil fermentasi, sayuran yang telah busuk dan dari saluran pencernaan ikan atau udang. Jini *et al.*, (2011) berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan air tawar yaitu genus *Enterococcus* dan *Pediococcus*. Selain dua jenis bakteri di atas *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* juga termasuk bakteri asam laktat yang diketahui mempunyai aktivitas hambat yang besar terhadap pertumbuhan beberapa bakteri patogen (Fardiaz, 1992).

Gildberg *et al.* (1997) menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan bakteri asam laktat tumbuh secara alamiah dan memberikan efek positif dengan menekan pertumbuhan bakteri patogen intestin penyebab diare, serta menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Sunaryanto *et al* (2014) mengisolasi bakteri *Lactobacillus casei* dari susu fermentasi yang berperan sebagai probiotik. Isolat ini mampu menghambat pertumbuhan *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis*.

Peranan penting bakteri asam laktat adalah kemampuan bakteri tersebut memproduksi komponen antimikroba, seperti bakteriosin. Bakteriosin diketahui potensial menjadi biopreservatif pada bahan makanan. Senyawa ini berfungsi memperpanjang umur

simpan produk. Kemampuan bakteriosin sebagai biopreservatif dibuktikan dengan kemampuannya dalam menghambat mikroorganisme patogen (Ngendaung, 2001).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat berupa protein yang memberikan efek bakterisidal khususnya terhadap bakteri gram positif (Vuyst & Vandamme, 1994). Bakterisidal adalah senyawa yang mempunyai kemampuan untuk membunuh mikroorganisme lain. Target utama dari bakteriosin yang diproduksi bakteri asam laktat kemungkinan besar adalah membran sitoplasma. Bakteriosin akan mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transpor membran atau menghilangkan tenaga gerak proton yang mengakibatkan terhambatnya produksi energi dan biosintesis protein (Nissen & Meyer, 1992).

2. Metode Penelitian

Sumber Isolat

Sampel penelitian yang digunakan sebagai sumber bakteri asam laktat yaitu: susu fermentasi, sawi fermentasi dan saluran pencernaan ikan nila. Sampel yang diperoleh selanjutnya dibawa ke Laboratorium. Isolat bakteri patogen yang digunakan adalah *Eschericia coli*, *Salmonella thypii* dan *Shigella dysentriae*. Bakteri ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar*. Keseluruhan isolat disimpan pada inkubator suhu $\pm 28-30^{\circ}$ C untuk digunakan selanjutnya

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Sampel ikan dibedah secara aseptis dan diambil bagian usus. Selanjutnya usus ikan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan ditambahkan 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,85%. Suspensi kemudian dihomogenkan dengan vortex. Dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-5} . Sebanyak 0,1 ml dari tiap seri pengenceran diinokulasikan ke media MRSA. Kultur diinkubasi 48 jam pada suhu $28-30^{\circ}$ C.

Sampel berupa susu dan sawi fermentasi diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan larutan NaCl fisiologis 0,85% hingga volume mencapai 10 ml. Suspensi dihomogenkan dengan vortex. Dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-5} . Sebanyak 0,1 ml dari

tiap seri pengenceran diinokulasikan ke media MRSA. Kultur diinkubasi 48 jam pada suhu ruang 28-30° C. Isolat bakteri yang tumbuh dengan perbedaan morfologi menyangkut bentuk, warna, tepi dan elevasi koloni selanjutnya dikoleksi.

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan ciri-ciri dan karakter morfologi secara visual dan mikroskopis. Identifikasi isolat bakteri berdasarkan karakteristik tersebut dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergeys Manual of Determinative of Bacteriology*.

Uji Antagonis Isolat Bakteri Asam Laktat dengan Bakteri Patogen

Suspensi bakteri patogen dengan kerapatan sel 10^8 sel dioleskan pada permukaan media uji dengan menggunakan *cotton bud* steril. Sebanyak 10 μ l suspensi bakteri asam laktat diteteskan pada kertas cakram kosong (*blank disc*). Pengujian antagonis isolat dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer (Lay, 1994). Kertas cakram uji diletakkan pada kedua sisi media yang telah diolesi bakteri patogen dengan jarak tanam 3 cm. Cawan uji diinkubasi pada suhu 28-30° C selama 24 jam. Aktivitas antagonis bakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat.

3. Hasil dan Pembahasan

Dari hasil isolasi terhadap 3 jenis sampel (susu fermentasi, sayuran fermentasi dan saluran pencernaan ikan) diperoleh sebanyak 6 isolat bakteri asam laktat. Ketiga jenis sampel merupakan habitat bakteri asam laktat. Jumlah total populasi isolat pada sampel susu fermentasi yaitu sebanyak $4,8 \times 10^6$ CFU, pada sayuran fermentasi yaitu sebanyak $3,3 \times 10^6$ CFU dan pada saluran pencernaan ikan sebanyak $3,8 \times 10^6$ CFU.

Keenam isolat bakteri tersebut memiliki karakteristik yang berbeda baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Didapatkan 2 isolat pada sampel susu fermentasi (BAL01 dan BAL02), 3 isolat pada sampel sayuran fermentasi (BAL03, BAL04 dan BAL05) dan 1 isolat pada saluran pencernaan ikan (BAL06).

Tabel 1. Karakteristik makroskopis isolat

Isolat	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
BAL01	Krem kekuningan	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
BAL02	Krem	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
BAL03	Krem	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
BAL04	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
BAL05	Kuning	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
BAL06	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>

Berdasarkan data pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa, karakteristik makroskopis dibedakan berdasarkan warna koloni bakteri, bentuk, tepi dan elevasi. Variasi warna ditunjukkan keenam isolat bakteri asam laktat yaitu BAL01 krem kekuningan, BAL02 dan BAL03 krem, BAL04 dan BAL06 putih, sedangkan BAL05 kuning. Elevasi koloni bakteri untuk isolat BAL01 sampai BAL05 sama yaitu *convex*, sedangkan isolat BAL06 memiliki elevasi koloni berbeda yaitu *flat*. Bentuk dan tepi koloni bakteri keenam isolat menunjukkan hasil yang sama yaitu *circular* dan *entire*. Perbedaan karakteristik isolat menunjukkan perbedaan jenis isolat yang diperoleh. Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan kelompok bakteri gram negatif dan bakteri gram positif (Tabel 2). Bakteri gram positif akan berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah.

Tabel 2. Pewarnaan Gram isolat bakteri asam laktat

Isolat	Bentuk sel	Penataan	Gram
BAL01	Basil	<i>Mono-, diplo-, strepto-</i>	(+)
BAL02	Basil	<i>Mono-, diplo-, sta- phylo-</i>	(+)
BAL03	Basil	<i>Mono-, diplo-</i>	(+)

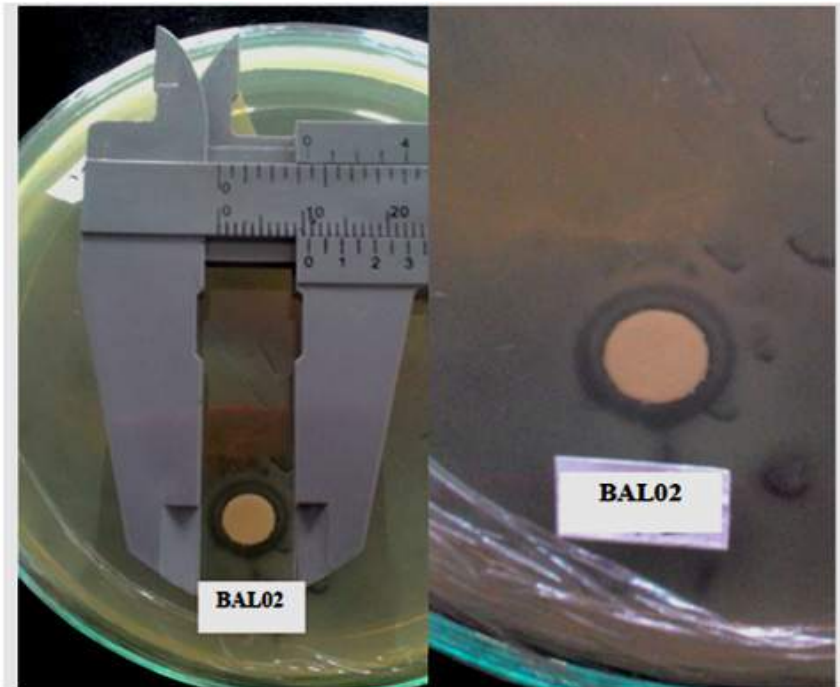
BAL04	Basil	<i>Mono-, diplo-, strepto-</i>	(+)
BAL05	Basil	<i>Mono-, strepto-</i>	(+)
BAL06	Kokus	<i>Mono-, diplo-, sta- phylo-</i>	(+)

Hasil uji antagonis isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen, menunjukkan keenam isolat memiliki kemampuan bervariasi dalam menghambat pertumbuhan *Eschericia coli*, *Salmonella thypii* dan *Shigella dysentriiae* (Tabel 3.)

Tabel 3. Zona hambat pada uji antagonis

Isolat	Zona hambat (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. thypii</i>	<i>S.dysentriiae</i>
BAL01	8.00	0.00	7.00
BAL02	9.25	8.50	10.75
BAL03	9.25	8.10	11.00
BAL04	8.00	8.00	8.00
BAL05	7.00	6.50	7.80
BAL06	6.50	7.50	7.00

Keenam isolat memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda – beda berkisar antara 6.5 – 11 mm. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa zona hambat tertinggi dalam menghambat *E. coli* ditunjukkan oleh isolat BAL01 dan BAL02 yaitu sebesar 9.25 mm. Zona hambat tertinggi dalam menghambat *S. Thypii* ditunjukkan oleh isolat BAL02 yaitu sebesar 8.5 mm. Sedangkan isolat BAL01 diketahui tidak mampu menghambat pertumbuhan *S. Thypii*. Zona hambat terbesar dalam menghambat *S. dysentriiae* ditunjukkan oleh isolat BAL03 yaitu sebesar 11 mm. Kemampuan antagonis ditandai dengan adanya penghambatan berupa zona jernih disekitar kertas cakram yang digunakan pada uji antagonis (Gambar 1.)



Gambar1. Kemampuan antagonis isolat BAL02 terhadap *E. coli*

Adanya aktivitas antagonisme yang kuat dari isolat bakteri asam laktat sehingga efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen jamur dengan mendegradasi dinding sel bakteri patogen tersebut. Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang dibentuk bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen diantaranya adalah interaksi antara kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah enzim yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai Eksplorasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dan Potensinya dalam Menghambat Bakteri Patogen, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Terdapat 6 isolat yang berhasil diisolasi dari 3 jenis sampel yaitu BAL01, BAL02, BAL 03, BAL04, BAL05 dan BAL06.
2. Seluruh isolat bakteri asam laktat yang diujikan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Eschericia coli*,

Salmonella thypii dan *Shigella dysentriae*.

3. BAL01 dan BAL02 merupakan isolat yang memiliki zona hambat terbesar terhadap *Eschericia coli*.
4. BAL02 merupakan isolat yang memiliki zona hambat terbesar terhadap *Salmonella thypii*.
5. BAL03 merupakan isolat yang memiliki zona hambat terbesar terhadap *Shigella dysentriae*.
6. BAL01, BAL02 dan BAL03 dapat dijadikan kandidat probiotik yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Daftar Kepustakaan

- Fardiaz S, Jenie BSL, Solihati A. 1997. Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat yang bersifat Antimikroba dari Sauerkraut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 8(3).
- Gildberg, A. Mikkelsen, Sandaker, E. and Ring, E. 1997. Probiotic Effect of Lactid Acid Bacteria in The Feed on Growth and Survival of Fry of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) *Hydrobiologia. Appl, Microbiology*. 352: 279-285.
- Jini R, Swapna HC, Rai AK, Vrinda R, Halami PM, Sachindra NM, Bhaskar N. 2011. Isolation and Characterization of Potential Lactic Acid Bacteria (LAB) from Freshwater Fish Processing Wastes for Application in Fermentative Utilisation of Fish Processing Waste. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 1516-1525.
- Ngendaung S. 2001. Study on Bacterion-Producing Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods. Master Thesis, Microbiology, Kasetsart university, Bangkok.
- Nissen-Meyer, J., H. Holo, S. Havastein, K. Sketten, dan I.F. Nes. 1992. A novel lactococcal bacteriocin whose activity depend on the complementary action of two peptides. *J. Bacteriol.* 17(4): 5686-5692.
- Sunaryanto, R., Martius, E & Marwanto, E. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 1(1):2442-2602.
- Utami, D.A. 2011. Karakterisasi Molekular Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik dengan Gen 16s rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin Fermentasi Sirsak (*Annona Maricata.L*) Di Sumatera Barat. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang
- Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria *In: De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetic and application*. London: Blackie Academic & Professional.

