



Aktivitas Bakteriosin Bakteri Asam Laktat (Bk-01) dalam Menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Cut Yulvizar^{1*}, Yulia Sari Ismail¹, Irma Dewiyanti², Cut Nanda Defira¹

¹Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

²Program Studi Ilmu Kelautan, FKP, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden
email: cut-yulvizar@unsyiah.ac.id

Kata kunci: Keywords:
Bakteri Asam Laktat Lactat Acid Bacteria
Bakteriosin Bacteriocin
Aktivitas antibakteri Antibacterial activity

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) adalah salah satu kelompok bakteri penting yang memberikan manfaat kesehatan bagi manusia dan hewan. BAL dapat menghasilkan bakteriosin yang telah digunakan sebagai pengawet makanan, karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang berpotensi membahayakan kesehatan manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas antibakteri bakteriosin BK-01. Bakteri asam laktat diisolasi dengan metode pour plate menggunakan MRSA (De Man, Rogosa, Sharpe Agar) sebagai media seleksi untuk BAL. Bakteriosin dari BK -01 dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (10,67 mm) dan *Escherichia coli* (3 mm). Disimpulkan bahwa bakteriosin BK-berpotensi sebagai biopreservatif dalam pangan.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are among the important groups of bacteria that provide health benefits for humans and animals. LAB can produce bacteriocin that have been used as food preservatives, due to their ability to inhibit microorganisms potentially growth harmful to human health. The objective of this research is to study antibacterial activity of bacteriocin BK-01 . The lactic acid bacteria were isolated by pour plate method using MRSA (De Man, Rogosa, Sharpe Agar) as selection media for LAB. The bacteriocin from BK -01 can inhibits *Staphylococcus aureus* (10.67 mm) and *Escherichia coli* (3 mm) growth. It is concluded that bacteriocin BK- 01 has potential as bio preservative food.

1. PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang penting terutama dalam menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, yaitu bakteri penyebab kebusukan dan bakteri patogen. Keberadaan BAL sering ditemukan secara alamiah dalam bahan pangan. Pemanfaatan BAL diantaranya sebagai kultur starter dalam produksi fermentasi seperti produk-produk susu serta sayuran dan buah-buahan (Smid dan Gorris, 2007; Doyle *et al.*, 2013).

Senyawa antimikroba yang diproduksi oleh BAL yang potensial sebagai pengawet alami atau biopreservatif, antara lain asam laktat, asam asetat, diasetil, asetoin, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Nuraida, 2014). Bakteriosin adalah komponen protein polipeptida hasil sintesis oleh ribosom (Savadogo *et al.*, 2006). Bakteriosin yang diproduksi oleh BAL berpotensi diaplikasikan pada pangan sebagai biopreservatif karena dapat menghambat

pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat digunakan sebagai pengganti pengawet berbahan kimiawi (Arief *et al.*, 2013). Sifat bakteriosin adalah dapat dicerna oleh protease di usus, tidak mempengaruhi mikrobiota usus (Woraprayote *et al.*, 2016), tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin. Bakteri asam laktat ini disebut juga sebagai *foodgrade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS). *Generally Recognized As Safe* (GRAS) ini adalah mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Maldonado *et al.*, 2003).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang dapat memproduksi produk metabolit yang merupakan senyawa antimikroba seperti asam laktat, asam asetat, diasetil, asetoin, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Produk metabolit yang dihasilkan oleh BAL dapat menjadi biopreservatif pada bahan pangan. Penelitian pendahuluan telah berhasil mengisolasi BAL dari kerbau Aceh dan diberi

kode BK-01. Isolasi BAL BK-01 menggunakan media selektif yaitu *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), dimana sifat media selektif ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri tertentu seperti BAL. selanjutnya, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aktivitas bakteriosin terhadap bakteri patogen yang berpotensi sebagai biopreservatif.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Sterilisasi alat dan bahan

Peralatan seperti cawan petri dan tabung reaksi dicuci bersih dan dikeringkan. Peralatan tersebut dibungkus menggunakan kertas, sedangkan bahan seperti media dan aquadest masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan tabung kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan plastik wrap terlebih dahulu dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 Psi selama 15 menit. Sterilisasi juga dilakukan pada *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dengan menyemprot alkohol 70% ke dalam LAFC dan dilap dengan *tissue* bersih agar terbebas dari mikroba atau sumber kontaminan.

Peremajaan isolat BAL BK-01

Satu koloni isolat BK-01 diambil menggunakan ose secara aseptik. Isolat bakteri diinokulasi dengan metode empat kuadran di atas permukaan media MRSA. Isolat diinkubasi selama 24-48 jam di dalam inkubator pada suhu 37°C. Setiap 2 minggu sekali dilakukan peremajaan untuk mempertahankan kehidupan bakteri.

Produksi bakteriosin

Isolat bakteri BK-01 yang telah diremajakan selanjutnya diinokulasi ke dalam media *Man Ragosa Sharpe Broth* (MRSB), kemudian diinkubasi pada inkubator bergoyang (*shaker waterbath*) pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri sebanyak 1 mL disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Hasil yang diperoleh merupakan supernatant.

Zona hambat bakteri *E.coli* dan *S. aureus*

Masing-masing suspensi sebanyak 250 µL biakan bakteri *E.coli* dan *S. aureus* (0,5 McFarland) atau sama dengan populasi 6×10^6 sel bakteri/ml dituang pada masing-masing media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah padat. Kemudian biakan bakteri diambil dengan menggunakan *swab* steril dan diratakan di atas permukaan MHA. Sebanyak 10-20 µL supernatant isolat bakteri BK-01 diteteskan di atas kertas cakram berukuran 5 mm dengan ketebalan 2 mm kemudian pada media yang sudah diswab diletakkan cakram bakteriosin tersebut, cakram yang diteteskan MRSB sebagai kontrol negatif dan cakram antibiotik sebagai kontrol positif di atas permukaan MHA. kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya zona bening (zona penghambatan) yang terbentuk dihitung dengan rumus. Pengulangan dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali ulangan. Pengukuran zona bening dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

3. HASIL

Potensi bakteriosin yang dihasilkan oleh BK-01 sebagai antimikroba menunjukkan hasil yang baik. Bakteriosin tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan

membentuk sebesar zona hambat rata-rata sebesar 10,67 mm dan bakteri gram negative yaitu *Escherichia coli* sebesar 3 mm (Tabel 1).

4. PEMBAHASAN

Ekstrak bakteriosin kasar isolat BK-01

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak bakteriosin kasar isolat BK-01 menggunakan dua indikator dengan tiga kali ulangan (triplo). Indikator positif menggunakan antibiotik tetracycline, dimana antibiotik ini merupakan antibiotik berspektrum luas. Menurut Coyle (2005) antibiotik tetracycline merupakan antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif. sedangkan indikator negatif menggunakan kertas cakram yang telah direndam dalam media MRSB.

Hasil produksi bakteriosin kasar terhadap tiga ulangan dari isolate BK-01 terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memperlihatkan adanya terbentuk zona bening (zona hambat).

Tabel 1. Aktivitas antibakteri bakteriosin isolat BAL BK-01

No	Staphylococcus aureus			Escherichia coli		
	K+	K-	Bakteriosin	K+	K-	Bakteriosin
1	31	0	10	25	0	3,5
2	33	0	12	21	0	3,9
3	28	0	10	22	0	3
Rata-rata	30.7	0	10.67	22.7	0	3

Keterangan:

K+ = tetracycline

K+= kertas cakram

Menurut Pan, *et al.* (2009) zona hambat bakteriosin terhadap bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dan *Salmonella* termasuk dalam kategori tinggi apabila diameter yang terbentuk lebih dari 6.23 mm (>6mm) dan kategori sedang dengan diameter lebih dari 3.9 mm (>3mm). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bakteriosin kasar BK-01(10,67mm) termasuk katagori tinggi dan berpotensi menghasilkan antimikroba sebagai biopreservatif.

Terhadap bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli*. memperlihatkan zona hambat sebesar 3 mm. Katagori zona hambat bakteriosin terhadap *E.coli* adalah kategori tinggi yaitu diameter lebih dari 6.10 mm (>6mm) dan kategori sedang dengan diameter lebih 3.43 mm (>3mm). Isolate BK-01 memiliki antibakteri terhadap *E.coli* katagori sedang (3 mm). Hal ini dapat dikarenakan bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat hanya dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri kelompoknya saja yaitu sama-sama bakteri Gram positif. Aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL hanya dapat menghambat pertumbuhan beberapa galur tertentu dari bakteri Gram negatif dan umumnya bakteriosin sangat efektif menghambat sebagian besar bakteri Gram positif terutama galur yang berdasarkan filogeni lebih dekat dengan mikroorganisme penghasil bakteriosin itu sendiri. Faktor yang mungkin terjadi yaitu karena lapisan lipopolisakarida (LPS) dari dinding sel bakteri Gram negatif. Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tidak efektif dalam menghambat bakteri Gram negatif. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan adanya lapisan lipopolisakarida (LPS)

dari dinding sel bakteri Gram negatif yang melindungi membran sel, sebagai lokasi target bakteriosin (Reis *et al.*, 2012).

Faktor lainnya yang mungkin menyebabkan kecilnya zona hambat pada indikator *E. coli* dikarenakan bakteriosin yang digunakan masih berupa ekstrak bakteriosin kasar. Menurut Emmawati *et al.* (2015), ekstrak bakteriosin kasar hanya mempunyai aktivitas antimikroba yang lemah terhadap bakteri uji dibandingkan dengan bakteriosin murni. Savadogo *et al.* (2006) bakteriosin murni didapatkan dengan cara menyaring supernatan bebas sel dengan membran filter (*milliphore*). Suardana (2013) menyatakan bahwa bakteriosin murni harus disesuaikan pH nya menjadi pH 7,0 dan juga diendapkan dengan menambahkan garam amonium sulfat. Penelitian lain juga melaporkan bahwa tak satupun supernatan bebas sel dari isolat bakteri asam laktat asal zaitun terfermentasi, yang mempunyai aktivitas antimikroba dikarenakan bukan bakteriosin murni yang didapatkan (Argyri *et al.* (2013).

5. KESIMPULAN

BK-01 mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. BK-01 berpotensi sebagai pengawet alami (biopreservatif).

DAFTAR PUSTAKA

- Arief I.I., Jakaria, S.T., Wulandari, Z. dan Andreas, E. (2013). Isolation and characterization of plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* Strain (IIA/1A5, IIA/1B1, IIA/2B2). *Media Peternakan*. 36: 91-100.
- Argyri, A.A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.G. Tsakalidou, E., Nychas, G.E., Panagou, E.Z. dan Tassou, C.C. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Journal Food Microbiology*. 33: 282-291.
- Coyle, M.B. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology.

- Doyle, M.P., Steenson, L.R., and Meng, J. (2013). Bacteria in food and beverage production. *Applied Bacteriology and Biotechnology*. 241–256.
- Emmawati A., Betty S.L., Suryaatmadja J., Lilis N., Dahrul S. (2015). Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi Sebagai Probiotik. *Jurnal Agritech*. 35: 146-155.
- Maldonado, A., Ruiz-Barba, J.L. and Jime'nez-Díaz, R. (2003). *Purification and Genetic Characterization of Plantaricin NC8, a Novel Coculture-Inducible Two-Peptide*
- Nuraida, L. (2014). The Choice of Natural Preservatives. *Foodreview Indonesia*. 9: 46-50.
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S.N. and Penna, A.L.B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Enggining Review*. 4: 124–140.
- Savadogo, A., Cheik, A.T.O., Imael, H.N.B. and Traore, S.A. (2006). Bacteriocins and Lactic Acid Bacteria A Minireview. *Africa Journal Biotechnology*. 5: 678-683.
- Smid, E. J. and Gorris, L.G.M. (2007). *Natural Antimicrobial for Food Preservation*. CRC Press, New York.
- Suard Suardana,, I.W. (2013). Potensi Isolat *Lactobacillus brevis* 1 Asal Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Sumber Senyawa Antimikroba. *Prosiding Seminar Nasional PKSB*. 87-97.
- Woraprayote, W., Yuwares, M., Supaluk, S., Adisorn, S., Soottawat, B. and Wonnop, V. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Journal Meat Science*. 120: 118-132