

AKTIVITAS ANTIMIKROBA ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI PEKASAM

Annisa Ika Fadilla, Maherawati, dan Dzul Fadly

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Tanjungpura
Jl. Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Kota Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia
E-mail korespondensi: annisaiakaf08@gmail.com

ABSTRAK

Pekasam merupakan produk fermentasi yang biasanya menggunakan ikan air tawar sebagai bahan baku utama lalu diinkubasi di dalam wadah tertutup. Bakteri yang dominan tumbuh dalam pekasam adalah bakteri asam laktat (BAL). BAL memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab *foodborne disease*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi BAL dari pekasam ikan air tawar dan menentukan aktivitas antimikrobanya terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan parameter berupa jumlah koloni BAL, morfologi mikroskopis dan makroskopis BAL serta aktivitas antimikroba berdasarkan zona hambat BAL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah koloni BAL dalam pekasam yang difermentasi selama 7 hari antara $4,57 \times 10^5$ - $5,63 \times 10^6$ CFU/mL. Berdasarkan morfologinya, diperoleh 24 isolat yang mempunyai ciri-ciri sebagai BAL. Semua isolat merupakan kelompok bakteri gram positif, 12 isolat berbentuk *coccus* dan 12 berbentuk isolat *bacill*. Semua koloni berbentuk bulat dan tidak beraturan, tepian rata dan bergelombang, elevasi cembung dan rata, warna putih dan putih kekuningan. Hasil uji aktivitas antimikroba pada semua sampel menunjukkan bahwa daya hambat isolat BAL dari pekasam terhadap bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi* dan *P. aeruginosa*. mempunyai rata-rata diameter zona hambat <5 mm. Zona hambat tertinggi (2,69 mm) terdapat pada sampel SG3 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan zona hambat terendah (0,64 mm) terdapat pada sampel SG1 terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: fermentasi; morfologi; patogen.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATES FROM PEKASAM

ABSTRACT

Pekasam is a fermented product that usually uses freshwater fish as the main raw material, then incubated in a closed container. The dominant bacteria that grow in pekasam are lactic acid bacteria (LAB) which potentially inhibit the growth of pathogenic bacteria that cause foodborne disease. This study aimed to isolate LAB from pekasam and determine its antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa*. This study used a descriptive method with parameters such as the number of LAB colonies, morphology, and antimicrobial activity. The results showed that the number of LAB colonies in pekasam which fermented in 7 days was between 4.57×10^5 - 5.63×10^6 CFU/mL. 24 isolates of LAB had the characteristics of LAB, 12 isolates were *coccus*, and 12 were *bacill*. All colonies have a round and irregular colonies, flat and wavy edges, convex and flat elevations, and white and white-yellowish color. The results of the antimicrobial activity test showed that all isolates from SG1, SG2 and SG3 had inhibitory power against *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi* and *P. aeruginosa* with an average diameter of the inhibition zone <5 mm. The highest inhibition zone (2.69 mm) was found in sample SG3 against *Staphylococcus aureus*, and the lowest inhibition zone (0.64 mm) was found in sample SG1 against *Pseudomonas Aeurignosa*

Key words: fermentation; morphology; pathogen.

PENDAHULUAN

Pekasam merupakan pangan fermentasi dari ikan dengan penambahan garam dan nasi. Garam berfungsi untuk menekan pertumbuhan bakteri pembusuk serta nasi digunakan sebagai sumber karbohidrat untuk mendukung mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi lalu diinkubasi di dalam wadah tertutup selama 5-10 hari. Ikan yang digunakan umumnya merupakan jenis ikan air tawar. Fermentasi yang terjadi pada pembuatan pekasam merupakan fermentasi spontan (Desniar dan Purnama, 2016). Pekasam yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini berasal dari Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat dengan jenis ikan yang digunakan seperti ikan nila, ikan baung dan ikan kujam yang difermentasi selama 7 hari.

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang dominan tumbuh pada proses fermentasi pekasam. BAL mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat sehingga terjadi penurunan pH yang disebabkan oleh asam yang dihasilkan oleh BAL. Asam yang dihasilkan selama proses metabolisme BAL akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain seperti bakteri patogen yang dapat merusak proses fermentasi dari pekasam (Nurhamidah *et al.*, 2019). BAL mempunyai peran penting dalam fermentasi makanan karena dapat menyebabkan perubahan rasa, aroma dan tekstur (Desniar *et al.*, 2013). Perubahan dari proses fermentasi pekasam itu sendiri yaitu memiliki rasa yang asam serta tekstur yang lembek. BAL memproduksi beberapa metabolit seperti asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa-senyawa peptida yang dapat digunakan sebagai agen biopreservatif atau bahan pengawet alami (Nurraifah *et al.*, 2021). Keunggulan dari senyawa bakteriosin adalah tidak berbahaya jika dikonsumsi oleh manusia seperti terdapatnya bakteriosin pada keju, yoghurt, tempe, dll (Mastuti, 2022). Senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan dari BAL seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan diasetil berpotensi menjadi antimikroba karena mampu mencegah pembusukan pangan dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Hamidah *et al.*, (2019) antimikroba yang dihasilkan oleh BAL aman jika dikonsumsi oleh manusia karena termasuk sebagai mikroorganisme GRAS (*Generally Recognized as Safe*).

Penelitian ini menggunakan lima bakteri patogen sebagai indikator yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* yang akan diujikan pada BAL yang ada pada pekasam. Bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pneumonia, infeksi saluran pernafasan dan infeksi kulit. Bakteri ini tersebar di permukaan tanah dan air (Alhazmi, 2015). Bakteri *Salmonella typhi* merupakan salah satu bakteri patogen penyebab *foodborne disease* yang menyerang saluran pencernaan manusia (Detha *et al.*, 2020). Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang ditemukan pada makanan yang terkontaminasi akibat dari pengolahan yang tidak higienis seperti daging yang dimasak setengah matang. Penyakit yang ditimbulkan akibat mengonsumsi makanan yang tercemar *Escherichia coli* sering berupa diare dan kram perut (Aristyawan dan Nasution, 2017). Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan salah satu bakteri yang umumnya ditemukan dalam pencernaan dan jika jumlahnya terlalu banyak di dalam usus mampu menyebabkan diare yang ditularkan melalui kontaminasi makanan dan biasanya ditemukan pada (Kurniati *et al.*, 2021). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang menjadi penyebab infeksi dengan memproduksi enterotoksin yang menyebabkan pangan tercemar. Bakteri ini dapat tumbuh baik pada kondisi aerobik (Jawetz *et al.*, 2011). Gejala yang timbul akibat mengonsumsi makanan yang tercemar bakteri ini yaitu diare dan muntah (Amanati, 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dari pekasam serta menguji potensinya sebagai antimikroba terhadap beberapa bakteri patogen.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November hingga Maret 2023 bertempat di Laboratorim Terpadu, Universitas Tanjungpura. Sampel pekasam diambil dari 3 produsen di Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat yang berada di Desa Sengkuang, Desa Beringin, dan Desa Tanjung Sekayam. Sampel SG1 yang didapatkan dari Desa Sengkuang memiliki kriteria sampel yaitu menggunakan 1 kg ikan nila, kadar garam 75 gram dan nasi 100 gram. Sampel SG2 yang didapatkan dari Desa Beringin memiliki kriteria sampel yaitu menggunakan 1 kg ikan kujam, kadar garam 85 gram dan nasi 100 gram. Sampel SG3 yang didapatkan dari Desa Tanjung sekayam memiliki kriteria sampel yaitu menggunakan 1 kg ikan baung kadar garam 90 gram dan nasi 100 gram. Masing-masing sampel pekasam diberi label, lalu di fermentasi selama 7 hari, kemudian dianalisis lebih lanjut di laboratorium.

Isolasi dan Pemurnian BAL (Falakh dan Asri, 2020)

Isolasi BAL dilakukan dengan mengambil 1 gram sampel pekasam lalu diencerkan ke dalam larutan NaCl 0,85% steril menjadi 5 kali pengenceran mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Masing-masing seri pengenceran dituangkan sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri yang mengandung MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*), CaCO_3 NaCl, dan natrium azida. Setiap pengenceran dilakukan 3 kali ulangan dengan nilai akhir berupa rata-rata dari ketiga petri. Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni BAL pada cawan petri dengan kriteria koloni diantara 25-250 sesuai dengan persyaratan perhitungan mikroba dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan dengan metode gores. Satu koloni isolat bakteri diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan diinokulasi ke permukaan media MRSA. Inkubasi dilakukan pada

suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh kemudian diidentifikasi untuk ditemukan ciri-cirinya sebagai BAL.

Identifikasi Isolat BAL (Susilowati *et al.*, 2022)

Identifikasi isolat BAL dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri yang tumbuh. Proses karakterisasi dilakukan berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni untuk membedakan karakteristik visual yang meliputi bentuk, elevasi, tepian, dan warna sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan gram. Sampel Desa Sengkuang diberi kode SG1 dengan total sebanyak 6 isolat BAL, Sampel Desa Beringin diberi kode SG2 dengan total sebanyak 11 isolat BAL serta sampel Desa Tanjung Sekayam diberi label SG3 dengan total sebanyak 7 isolat BAL.

Uji Aktivitas Antimikroba (Kusumiyati *et al.*, 2020)

Uji aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan beberapa bakteri uji meliputi *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Suspensi bakteri uji diinokulasikan pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sebanyak 1 mL kemudian dihomogenkan dan didiamkan hingga memadat selama 15 menit. Kertas cakram direndam ke dalam suspensi bakteri asam laktat diletakkan pada permukaan media MHA yang telah berisi bakteri patogen secara aseptik dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada masing-masing isolat BAL lalu dirata-rata dari ketiga pengulangan tersebut. Nilai akhir berupa rata-rata dari masing-masing sampel SG1, SG2, dan SG3 yang telah dirata-ratakan pengulangannya Semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antimikroba ditentukan oleh zona hambat yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar cakram dan diameter zona hambat merupakan rata-rata pengukuran secara vertikal dan horizontal menggunakan jangka sorong. Pengelompokan zona hambat berdasarkan Parasthi dkk. (2020) jika berdiameter ≤ 5 mm maka dikategorikan lemah, jika berdiameter $>5-10$ mm dikategorikan sedang, jika berdiameter $>10-19$ mm dikategorikan kuat dan jika berdiameter ≥ 20 dikategorikan sangat kuat. Larutan amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif.

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan deskriptif kuantitatif. Total koloni bakteri yang dianalisis berdasarkan standar total koloni masih termasuk dalam produk laktat yang dapat memberikan manfaat kesehatan dengan jumlah BAL sebesar $10^5 - 10^9$ CFU/mL. Data parameter Total Koloni BAL dan Uji Aktivitas Antimikroba disajikan dalam bentuk tabel berupa hasil nilai rata-rata dari keenam isolat BAL untuk sampel SG1, kesebelas isolat BAL untuk sampel SG2 dan ketujuh isolat BAL untuk sampel SG3 dengan rumus perhitungan sebagai berikut :

- Total Bakteri (CFU/mL) = jumlah koloni bakteri $\times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$
- Luas Zona Bening = $\frac{(D.\text{vertikal} - D.\text{cakram}) + (D.\text{horizontal} - D.\text{cakram})}{2}$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Jumlah Koloni BAL

Isolasi BAL dilakukan untuk mendapatkan biakan murni BAL dari sampel pekasam. Isolasi BAL dilakukan dengan pengeceran bertingkat (10^{-1} hingga 10^{-5}). Setelah melalui tahap isolasi BAL, didapatkan 24 isolat dari ketiga sampel pekasam. Sampel SG1 diperoleh 6 isolat (dari pengenceran 10^{-5}), sampel SG2 diperoleh 11 isolat (dari pengenceran 10^{-5}), dan sampel SG3 diperoleh 7 isolat (dari pengenceran 10^{-4}). Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian dihitung, rata-rata jumlah koloni dari masing-masing sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah koloni BAL dalam sampel pekasam

Nama sampel	Jumlah Koloni (CFU/mL)
SG1	$5,63 \times 10^6$
SG2	$3,8 \times 10^6$
SG3	$4,57 \times 10^5$

Hasil perhitungan total koloni BAL dalam sampel pekasam diperoleh sebesar $4,57 \times 10^5$ - $5,63 \times 10^6$ CFU/ml. Menurut Diza dkk. (2016), jumlah total BAL dalam produk pangan yang dapat memberikan manfaat kesehatan berkisar antara 10^5 - 10^9 CFU/mL. Oleh karenanya, hasil total BAL yang diperoleh pada penelitian ini menggambarkan bahwa pekasam mempunyai potensi sebagai sumber BAL yang dapat bermanfaat bagi kesehatan. Hasil angka total BAL pekasam yang berbeda-beda diduga karena variasi sampel ikan yang digunakan. Perbedaan total BAL dari masing-masing sampel juga dikarenakan BAL memiliki waktu generasi yang berbeda-beda sehingga menyebabkan kemampuan adaptasi bakteri pun berbeda-beda (Rizal *et al.*, 2016). Hasil yang didapat pada penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Rinto dkk. (2022) yang mengisolasi bakteri asam laktat dari produk bekasam ikan nila dan mendapatkan total koloni BAL sebanyak $3,09 \times 10^6$ – $5,2 \times 10^6$ CFU/mL.

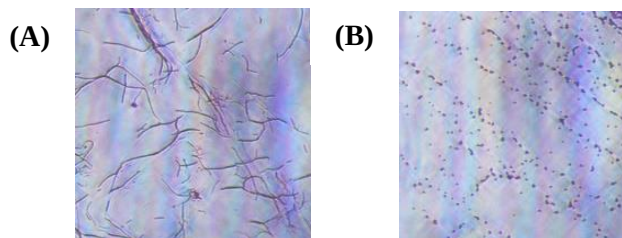
Karakteristik Morfologi BAL

Karakterisasi BAL dilakukan untuk membuktikan bahwa isolat-isolat bakteri yang diperoleh dari pekasam merupakan BAL berdasarkan sifat-sifat umumnya. Karakteristik morfologi bakteri asam laktat diidentifikasi secara mikroskopik dan makroskopik. Karakteristik mikroskopis dilakukan untuk melihat bentuk sel dan sifat gram bakteri dengan mikroskop pada perbesaran 400x sedangkan karakteristik makroskopis dilakukan untuk melihat bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, dan elevasi koloni bakteri (Susilowati *et al.*, 2022). Hasil identifikasi mikroskopis dan makroskopis isolat bakteri asam laktat dari sampel SG1 yaitu sebanyak 6 isolat, sampel SG2 sebanyak 11 isolat dan sampel SG3 sebanyak 3 isolat yang ciri-cirinya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik mikroskopis dan makroskopis isolat BAL dari ketiga sampel pekasam

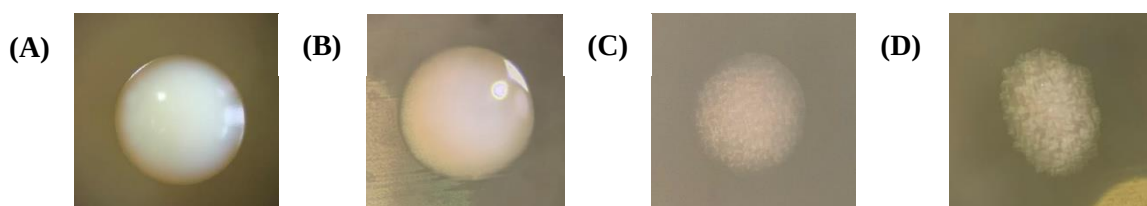
Kode isolat	Sifat Gram	Bentuk sel	Bentuk koloni	Tepian koloni	Elevasi koloni	Warna Koloni
SG1 (1)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG1 (2)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih krem
SG1 (3)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG1 (4)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG1 (5)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG1 (6)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (1)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (2)	+	<i>Bacill</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (3)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (4)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih krem
SG2 (5)	+	<i>Bacill</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (6)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (7)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (8)	+	<i>Bacill</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (9)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (10)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG2 (11)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih susu
SG3 (1)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG3 (2)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih susu
SG3 (3)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG3 (4)	+	<i>Bacill</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG3 (5)	+	<i>Bacill</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG3 (6)	+	<i>Bacill</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
SG3 (7)	+	<i>Coccus</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu

Berdasarkan hasil uji pewarnaan Gram yang disajikan pada Tabel 2, semua isolat bersifat gram positif. Sebanyak 12 isolat memiliki bentuk *bacill* dan 12 isolat lainnya berbentuk *coccus*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kelompok BAL akan memberikan pewarnaan gram positif dan bentuk sel *bacill* atau *coccus* (Nurin *et al.*, 2017; Nurhamidah *et al.*, 2019; Kurnia *et al.*, 2022; Syabanier *et al.*, 2017). Bentuk sel isolat BAL dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bentuk sel BAL pada perbesaran 400x
(A) bentuk *bacill* dan (B) bentuk *coccus*

Kelompok bakteri gram positif akan menghasilkan warna ungu pada pengecatan gram. Hal ini disebabkan oleh dinding sel bakteri gram positif yang tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga dapat mempertahankan warna kristal violet (Hamidah *et al.*, 2019). Hasil pengujian makroskopik koloni BAL pada semua sampel, menunjukkan bahwa terdapat 15 isolat memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna putih susu, 2 isolat memiliki bentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna putih kekuningan, 2 isolat memiliki bentuk bulat, tepian rata, elevasi datar dan berwarna putih susu, serta 5 isolat memiliki bentuk tidak beraturan, tepian tidak beraturan, elevasi datar dan berwarna putih susu. Karakteristik tersebut dapat dilihat dengan jelas pada Gambar 2.



Gambar 2. Bentuk koloni BAL (A) bulat, cembung, berwarna putih, (B) bulat, cembung berwarna putih kekuningan, (C) bulat, datar, berwarna putih dan (D) tidak beraturan, datar, berwarna putih

Karakteristik BAL dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian Yanti *et al.*, (2022) dan Fallo *et al.*, (2021) tentang karakteristik BAL yang memiliki morfologi koloni dengan ciri-ciri bulat, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna putih susu. Hasil penelitian mengenai isolasi BAL yang dilakukan oleh oleh Giatno dan Retnaningrum (2020) dan Pribadhi dkk. (2021) menunjukkan bahwa morfologi koloni memiliki bentuk koloni bulat, tepian rata, elevasi cembung dan koloni berwarna putih kekuningan. Penelitian yang dilakukan oleh Falakh dan Asri (2022) serta Putri dan Kusidyantini (2018) menunjukkan bahwa isolat L10⁵B dan INS-A3 memiliki ciri-ciri morfologi koloni bulat, tepian rata, elevasi datar dan berwarna putih susu yang mana karakteristik morfologi tersebut mengindikasikan karakteristik bakteri asam laktat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Nurin *et al.*, (2017) mengenai isolasi BAL yaitu memiliki ciri-ciri bentuk tidak beraturan, tepian bergelombang, elevasi rata dan berwarna putih susu. Berdasarkan ciri-ciri morfologi sel yang diperoleh, maka dapat dinyatakan bahwa 24 isolat dari sampel pekasam merupakan bakteri asam laktat.

Uji Aktivitas Antimikroba BAL

Uji aktivitas antimikroba pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Cakram yang berisi senyawa antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba (Utomo *et al.*, 2018). Hasil uji

aktivitas antimikroba isolat BAL dari sampel pekasam terhadap *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* dan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona hambat isolat BAL ketiga sampel terhadap bakteri patogen

Kode Sampel	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)				
	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.typhi</i>	<i>E.coli</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>
SG1	0,64±0,06	1,07±0,01	1,05±0,27	1,76±0,09	2,41±0,16
SG2	0,81±0,06	1,03±0,02	1,15±0,09	2,49±0,01	2,36±0,15
SG3	1,10±0,18	0,90±0,11	1,09±0,07	2,84±0,15	2,69±0,11
Kontrol +	1,13±0,07	1,27±0,19	1,98±0,04	2,91±0,05	6,79±0,10

Berdasarkan Tabel 3, isolat BAL dari pekasam menunjukkan luas zona hambat yang bervariasi. Rata-rata zona hambat untuk bakteri gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*) lebih besar dibandingkan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. typhi*). Semakin besar luas zona hambat yang dibentuk, maka semakin tinggi kemampuan BAL untuk melawan bakteri patogen. Zona hambat dikatakan kuat apabila nilainya melebihi 10 mm (Riadi *et al.*, 2017). Bakteri gram positif memiliki nilai zona hambat yang lebih besar daripada kelompok bakteri gram negatif karena pada umumnya bakteri gram negatif memiliki struktur dinding yang lebih kompleks terhadap senyawa antibakteri (Suryati dkk. 2018). Menurut Nurhayati dkk. (2020) dinding sel bakteri gram positif tersusun dari 95% peptidoglikan sedangkan bakteri gram negatif tersusun oleh lipidprotein, lipopolisakarida serta hanya mengandung sedikit peptidoglikan yaitu sekitar 5-10%. Asam-asam organik yang diproduksi oleh BAL akan menyebabkan turunnya pH pada medium menjadi 4-5 (Afaroh dan Suryani, 2023). Kondisi asam akan memicu terbentuknya lubang pada dinding sel bakteri patogen. Terbentuknya lubang disebabkan karena dinding sel bakteri patogen yang tersusun dari protein yaitu peptidoglikan akan terdenaturasi sehingga struktur primer protein rusak (Setiani *et al.*, 2021). Oleh karena itu bakteri gram negatif memiliki ketahanan yang lebih kuat terhadap senyawa antimikroba ditandai dengan luas zona hambat yang lebih kecil daripada bakteri gram positif.

Nilai zona hambat pada penelitian ini selaras dengan kisaran hasil yang diperoleh dari beberapa penelitian lain yaitu daya hambat BAL terhadap bakteri gram negatif yaitu *P. aeruginosa*, *S. typhi* dan *E. coli* yaitu berturut-turut memiliki diameter zona hambat berkisar antara 0,60-4,50 mm, 0,90-1,07 mm dan 0,90-1,20 mm. Demikian pula daya hambat terhadap bakteri gram positif yaitu *B. subtilis* dan *S. aureus* berturut-turut dengan kisaran 1,00-1,30 mm dan 1,70-2,30 mm. (Putra *et al.* (2018); Yufidasari *et al.* (2021); Hamid dan Fuzi (2021)

Perbedaan zona hambat antar sampel diduga disebabkan oleh variasi bahan yang digunakan dalam pembuatan pekasam salah satunya adalah kad

ar garam. Kadar garam yang digunakan dalam pembuatan pekasam untuk sampel SG3 sebesar 90 gram dari 1 kg berat ikan (9%), SG2 sebesar 85 gram dari 1 kg berat ikan (8,5%) sedangkan sampel SG1 hanya 75 gram dari 1 kg berat ikan (7,5%). Konsentrasi minimal NaCl yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu sebesar 7,5% karena dapat meningkatkan tekanan osmotik substrat yang menyebabkan terjadinya penarikan air dari dalam sel mikroorganisme sehingga sel akan kehilangan air dan mengalami pengerutan. Hal ini menyebabkan aktivitas mikroorganisme terhambat (Amalia *et al.*, 2016). Pemilihan amoksisilin sebagai kontrol positif dikarenakan amoksisilin merupakan antibakteri yang berspektrum luas, sehingga mampu membunuh bakteri gram positif maupun gram negatif (Artati *et al.*, 2021).

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik amoksisilin sebagai kontrol positif terhadap kelima bakteri patogen memiliki kisaran zona hambat sebesar 1,13-6,79 mm setelah 24 jam inkubasi. Persentase penghambatan menggambarkan perbandingan zona hambat sampel terhadap zona hambat amoksisilin. Persentase penghambatan isolat BAL pekasam pada penelitian ini mempunyai kisaran 36,52%-81,09%. Persentase penghambatan terbesar (81,9%) adalah penghambatan terhadap *B. subtilis*, sedangkan persentase penghambatan terkecil (36,52%) adalah terhadap *S. aureus*.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, jumlah isolat BAL pekasam berkisar antara $4,57 \times 10^5$ - $5,63 \times 10^6$ CFU/mL. Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh sebanyak 24 isolat dengan morfologi koloni berbentuk bulat dan tidak beraturan, tepian rata dan bergelombang, elevasi cembung dan datar serta koloni berwarna putih dan putih kekuningan. Semua isolat termasuk ke dalam kelompok bakteri gram positif dengan 12 isolat berbentuk *coccus* dan 12 sel berbentuk *bacill*. Semua isolat memiliki daya hambat terhadap bakteri gram positif dan gram negatif dengan rata-rata diameter zona hambat <5 mm (termasuk ke dalam kategori lemah). Zona hambat terhadap bakteri gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*) lebih besar dibandingkan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. thypii*). Zona hambat tertinggi (2,69 mm) terdapat pada sampel SG3 terhadap bakteri *S. aureus* dan zona hambat terendah (0,64 mm) terdapat pada sampel SG1 terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afaroh, F. R., & Suryani, L. (2023). Optimization of pH to Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria Growol Isolate Against *Salmonella typhi*. *Proceedings University of Muhammadiyah Yogyakarta Undergraduate Conference*, 3 (2), 139-145.
- Alhazmi, A. (2015). Antibacterial Activity of Miswak (*Salvadora persica* L.) Extracts on Oral Hygiene. *JTUSCI*, 10(4), 513–520
- Amalia, A., Dwiyantri, R. D., & Haitami, H. (2016). Daya Hambat NaCl terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Medical Laboratory Technology Journal*, 2(2), 42-45.
- Amanati, L. (2014). Uji Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* pada Produk Mie Instan yang Beredar di Pasaran. *Jurnal Litbang Industri*, 2 (3), 73-80.
- Aristyawan, A. D., & Nasution, N. E. (2017). Potensi Antimikroba dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 39-43.
- Artati, A., Armah, Z., & Anwar A.Y. (2021). Uji Sensitivitas Berbagai Jenis Antibiotik terhadap *Salmonella* sp. yang Diisolasi dari Penderita Demam Typhoid. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 12(1), 25-34.
- Desniar, S. I., & Purnama, Y. I. (2016). Penapisan dan Produksi Antimikroba *Lactobacillus plantarium* NS (9) yang Diisolasi dari Pekasam Ikan Nila Atin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19, 132-139
- Desniar, Rusmana. I., Suwanto. A., & Mubarik. N.R. (2013). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from an Indonesian Fermented Fish (Pekasam) and Their Antimicrobial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Food Agric*, 25(6), 489-494
- Detha, A., Jo, M. G., Foeh, N., Ndaong, N., & Datta, F. U. (2020). Karakteristik Antimikroba Bakteri Asam Laktat Susu Kuda Sumba Terhadap Bakteri *Salmonella typhimurium*. *Journal of Tropical Animal Production*, 21(1), 50-56.
- Diza, Y. H., Wahyuningsih, T., & Hermianti, W. (2016). Penentuan Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Cemaran Mikroba Patogen pada Yoghurt Bengkuang Selama Penyimpanan. *Jurnal Litbang Industri*, 6(1), 1-11.
- Falakh, M. F., & Asri, M. T. (2022). Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(3), 514-524
- Fallo, G., Sine, Y., & Tael, O. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Air Rendaman Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Berpotensi Sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Pendidikan Biologi undiksha*, 8(3), 161-169.
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42-49.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. Coli* dan *S. Aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Hamid, T. H., & Fuzi, N. A. (2021). Lactic Acid Bacterium with Antimicrobial Properties from Selected Malay Traditional Fermented Foods. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(1), 11-34.

- Jawetz, E., Adelberg, E.A., dan Melnick, J. 2011. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan oleh Enugroho dan Maulana Edisi ke-20. Jakarta: EGC.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: "Lemea". *ALOTROP*, 4(1), 25-32.
- Kurniati, T. H., Rahayu, S., Nathania, I. R. B., & Sukmawati, D. (2021). Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Oncom, a Traditional Indonesian Fermented Food. *AIP Conference Proceedings*, 2331, 050017. <https://doi.org/10.1063/5.0043691>
- Kusumiyati, K., Setyaji, D. Y., Fadillah, M. F., & Rezaldi, F. (2022). Uji Daya Hambat Madu Hutan Baduy Sebagai Substrat Pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Medfarm: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 11(2), 142-160.
- Mastuti, S. (2022). Potensi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 25-30.
- Nurraifah, Y., Arief, I. I., & Ulupi, N. (2021). Penggunaan Bakteriosin yang Diproduksi oleh *Lactobacillus plantarum* sebagai Pengawet Alami untuk Daging Ayam yang Disimpan di Suhu Ruang. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 9(1), 7-14.
- Nurhamidah, A., Warsidah, W., & Idiawati, N. (2019). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Ale-ale dan Cincalok. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 2(3), 85-90.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yoghurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nurin, L. A., Amalia, R., Arisna, T. S., Sulistyanto, W. N., & Trimulyono, G. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Berperan dalam Fermentasi Tumpi Jagung Bahan Pakan Ternak. *Sains dan Matematika*, 6(1), 20-25.
- Parasthi, L. Y. E., Afifah, D. N., Nissa, C., & Panunggal, B. (2020). Total Lactic Acid Bacteria and Antibacterial Activity in Yoghurt With Addition of *Ananas comosus* Merr. and *Cinnamomum burmannii*. *Amerta Nutr*, 4(4), 257.
- Pribadhi, A. N., Kusdiyantini, E., & Ferniah, R. S. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Cincalok sebagai Penghasil Gamma-Aminobutyric Acid. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 8(1), 25-32.
- Putra, T. F., Suprpto, H., Tjahjaningsih, W., & Pramono, H. (2018). The Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Peda, an Indonesian Traditional Fermented Fish. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 137(1), 1755-1315
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) yang Diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Riadi, S., Situmeang, S. M., & Musthari, M. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*, 3(3), 144.
- Rinto, R., Herpandi, H., Widiastuti, I., Sudirman, S., & Sari, M. P. (2022). Analisis Bakteri Asam Laktat dan Senyawa Bioaktif selama Fermentasi Bekasam Ikan Nila. *agriTECH*, 42(4), 400-409.
- Rizal, S., Erna, M., Nurainy, F., & Tambunan, A. R. (2016). Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas Dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 63-71.
- Saputri, M., Rossi, E., & Pato, U. (2017). Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kulit Ari Kacang Kedelai terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*, 4(2), 1-8.
- Setiani, B. E., Bintoro, V. P., & Fauzi, R. N. (2021). Pengaruh penambahan sari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai bahan penggumpal alami terhadap karakteristik fisik dan kimia tahu kacang hijau (*Vigna radiata*). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 16(1), 18-34.
- Susilowati, A. Y., Jannah, S. N., Kusumaningrum, H. P., & Sulistiani, S. S. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing Sebagai Bakteri Antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* Penyebab Foodborne Disease. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2), 24-31.
- Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati, I. (2018). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak *Aloe vera* terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 518-522.

- Syabaniar, L., Erina, E., & Sayuti, A. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam laktat Genus *Lactobacillus* dari Feses Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Kebun Binatang Kasang Kulim Bangkinang Riau. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(3), 351-359.
- Tyas, D. E., Widyorini, N., & Solichin, A. (2018). Perbedaan Jumlah Bakteri dalam Sedimen pada Kawasan Bermangrove dan Tidak Bermangrove di Perairan Desa Bedono, Demak. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 7(2), 189-196. <https://doi.org/10.14710/marj.v7i2.22541>
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa c-4-metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209.
- Yanti, A.N., Ardiansyah., & Yati K. (2022). Bakteri Asam Laktat dari Buah Mangga Arum Manis. *Jurnal Bionature*, 23(2), 132-137. <http://ojs.unm.ac.id/bionature>
- Yufidasari, H. S., Nursyam, H., & Della GB, J. (2021). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Ikan Patin dan Potensi Antimikrobanya terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 5(3), 578-585.