



POTENSI UJI DAYA HAMBAT BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT *Lactobacillus* sp. (KG6₁) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Dina Komara¹, Masnur Turnip², Rikhsan Kurniatuhadi³

^{1,2,3} Dosen Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura

*Email korespondensi: masnur.turnip@fmipa.untan.ac.id

Abstrak

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang aman ditambahkan ke dalam pangan. Bakteri asam laktat mampu menghambat bakteri patogen. Salah satu dari kelompok bakteri asam laktat yang menghasilkan antibakteri adalah genus *Lactobacillus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan lama waktu inkubasi yang baik isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Pengujian uji daya hambat menggunakan metode sumuran pada media Nutrient Agar (NA) dengan perlakuan inkubasi 7 hari dan 14 hari serta *ciprofloxacin* (kontrol positif) dan aquades steril (kontrol negatif) dengan waktu inkubasi 24 jam dan 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat berpotensi dalam menghambat *E. coli* dan *S. aureus* yang baik pada inkubasi 14 hari dengan rata-rata zona hambat 7,76 mm dan 31,17 mm dengan kategori sedang dan sangat kuat.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat; *E. coli*; *Lactobacillus*; *S. aureus*; Zona Hambat

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah sejenis bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang dan memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama proses fermentasi (Ramesh, 2015). Bakteri asam laktat yang telah diisolasi menghasilkan senyawa antibakterial *food grade microorganism* sebagai alternatif yang digunakan untuk pengawetan dalam mengontrol mikroba (Afriani *et al.* 2007). *Lactobacillus* merupakan salah satu dari kelompok Bakteri Asam Laktat yang dapat menghasilkan antibakteri. Selain menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang dapat merusak produk,

antibakteri ini dapat memperpanjang masa simpan (Galvez *et al.* 2007). Larsen *et al.* (1993) menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* TK9201 mampu menghambat bakteri *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* dan *S. aureus*, selain itu *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, dan *L. casei* dari susu mampu menghambat bakteri *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, dan *Streptococcus* (Saranya dan Hemashenpagam, 2011). Ekowati (1998) melaporkan bahwa dua jenis isolat *Lactobacillus* yang diperoleh dari tempoyak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *Streptococcus haemolyticus*. Menurut Narimo *et al.* (2019) *L. brevis* asal espisang ijo, *Lactobacillus*

casei dan *L.plantarum* ce hun tiau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis*, *Salmonella thypi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kajian mengenai isolat bakteri asam laktat pada durian biasa (*D. zibetinus*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen sudah beberapa kali dilakukan, sedangkan pada durian pekawai (*D. kutejensis*) belum banyak dikaji tentang potensi isolat bakteri asam laktat durian pekawai. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang potensi isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai April 2022. Di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *aluminium foil*, autoklaf, *Biological Safety Cabinet* (BSC), bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, *hot stir-plate*, inkubator shaker, jangka sorong, jarum ose, pipet tetes, rak tabung, tabung reaksi, sprayer, spuit, timbangan analitik. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) hasil isolasi oleh Permatasari (2022), akuades, alkohol, dMRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Agar dan Broth, NA (Nutrien Agar), NaOH 1 N, NaCl 0,85%, biakanbakteri anggota spesies *E. coli* dan *S. aureus*.

Prosedur Kerja Sterilisasi Alat

Alat-alat yang disterilisasi berupa cawan petri, tabung reaksi dan erlenmeyer dibungkus menggunakan plastik mika dengan kondisi kedap udara. Kemudian disterilisasi dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Pemurnian isolat BAL pada media MRS Agar dilakukan dengan metode cawan gores atau *Streak Plate method*. Cawan tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tahap pemurnian dilakukan untuk memperoleh isolat murni.

Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji

Kultur murni bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, diinokulasikan sebanyak satu ose pada media agar miring NA dalam tabung reaksi. Kemudian kultur tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Supernatan Isolat Bakteri Asam Laktat

Dua ose koloni bakteri bakteri asam laktat diinokulasi pada 50 mL media MRS *Broth* ke dalam erlenmeyer 100 ml, lalu diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 7 hari dan 14 hari pada suhu ruang. Hasil kultur tersebut kemudian dipindah ke dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah proses sentrifugasi selesai, maka akan terbentuk dua bagian lapisan yakni supernatan (bagian atas) dan pelet (bagian bawah). Supernatan yang mengandung senyawa metabolit tersebut kemudian disaring menggunakan kertas *Whatman* No.1 sehinggadiperoleh filtrat. Supernatan digunakan sebagai sampel uji zona hambat (Mulyadi & Sulistyani, 2012).

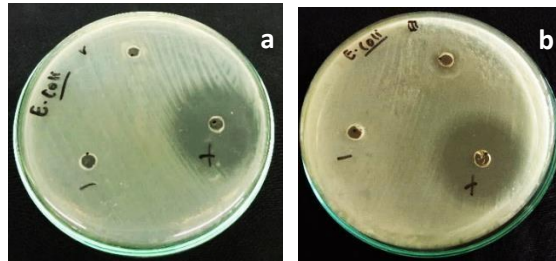
Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Isolat kultur bakteri anggota spesies *Eschericia coli* dan *S. aureus*, diambil menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml dan kocok hingga homogen dalam tabung reaksi. Kekeruhan suspensi mikroba uji diukur dengan alat spektrofotometer UV-Vis dan panjang gelombang 600 nm dengan tingkat kekeruhan disesuaikan dengan standart

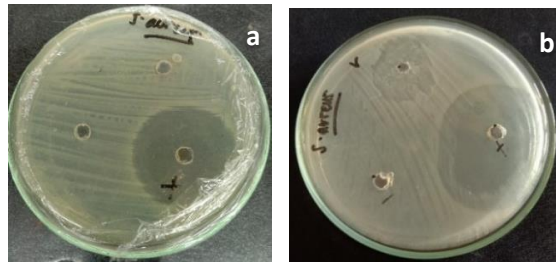
Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$) (Song *et al.*, 2015).

Uji Aktifitas Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri supernatan isolat bakteri asam laktat dilakukan menggunakan metode sumuran (*well method*). Inokulum bakteri *Eschericia coli* dan *S. aureus*, tersebut kemudian disembarkan di atas permukaan media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan kapas *swab* steril. Sumuran pada medium dibuat dengan menggunakan bagian ujung pipet steril dengan diameter sebesar 6 mm sebanyak tiga sumurandalam satu petri, lalu dimasukkan hasil supernatan isolat bakteri asam laktat sebanyak 25 μL , aquades steril sebagai kontrol negatif, *ciprofloxacin* sebagai kontrol positif kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai kemudian diukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Berdasarkan perhitungan diameter zona hambat yang diamati pada media, zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut, untuk diameter <5 mm dikategorikan lemah, 6-10 mm dikategorikan sedang, 11-20 mm dikategorikan kuat dan >20 mm dikategorikan sangat kuat (Rios *et al.*, 1988).



Gambar 1 (a) inkubasi shaker hari ke-7, (b) inkubasi shaker hari ke-14 terhadap *E.coli*



Gambar 2 (a) inkubasi shaker hari ke-7, (b) inkubasi shaker hari ke-14 terhadap *S.aureus*

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) memiliki kemampuan senyawa yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Kemampuan menghambat ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kontrol negatif dan inkubasi tujuh hari bakteri asam laktat tidak memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*. Perlakuan kontrol positif dan inkubasi 14 hari bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*.

sehingga tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Hasil uji daya hambat bakteri asam laktat inkubasi 14 hari menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen baik gram positif maupun gram negatif. Aktivitas penghambatan dapat terjadi karena senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat berupa asam laktat, diasetil dan hidrogen peroksida (Daeschel, 1989 dalam Sarkono *et al.*, 2006). Asam laktat yang

Perlakuan inkubasi selama tujuh hari terhadap

E. coli dan *S. aureus* yang tidak menghasilkan zona hambat dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam bakteri asam laktat belum mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Inkubasi 14 hari terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan zona hambat dengan kategori sedang dan sangat kuat yaitu sebesar 7,76 mm dan 31,17 mm. Menurut Heni *et al.* (2015) senyawa tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan oleh jumlah senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan masih sedikit, akibatnya metabolit sekunder tersebut tidak mampu menembus dinding sel

dihasilkan berdisosiasi dalam sitoplasma sel sehingga menurunkan pH sitoplasma sel bakteri patogen. Penurunan pH ini menguras energi untuk menjaga keseimbangan pH intraseluler bakteri patogen dan mengganggu fungsi sel bakteri patogen sehingga menyebabkan kematian sel (Saranya & Hemashenpagam, 2011). Semakin tinggi kadar asam laktat maka semakin kuat menghambat bakteri patogen. Selain asam laktat, Hidrogen peroksida (H₂O₂) yang dihasilkan juga bersifat antibakteri. Hidrogen

peroksida memiliki efek bakterisidal karena produksi superoksida oksigen dan radikal hidroksil yang menyebabkan oksidasi sel bakteri dan merusak struktur dasar molekul dari protein sel (Zalan *et al.*, 2005).

Rata-rata uji daya hambat bakteri asam laktat inkubasi 14 hari terhadap *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan *E. coli*. Menurut Fauziah *et al.* (2014), perbedaan besar daerah hambat pertumbuhan yang dibentuk pada setiap bakteridisebabkan perbedaan aktivitas hambat yang dipengaruhi oleh jenis dinding sel bakteri yang dihambat. Hal ini berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikrob karena perbedaan pada struktur dinding sel. Dinding sel bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur bakteri gram positif tidak dilapisi oleh membran luar sehingga senyawa antibakteri dapat masuk dengan mudah ke dalam sel bakteri gram positif. Sedangkan struktur bakteri gram negatif dilapisi oleh membran luar yang tebal sehingga sulit ditembus oleh senyawa antibakteri (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Dinding sel bakteri gram positif tersusun dari polisakarida, diantaranya mengandung peptidoglikan, asam teikoat dan asam teikuronat. Dinding sel bakteri gram positif seperti *S. aureus* terdiri dari polisakarida dan tidak memiliki membran luar sehingga lebih mudah mengalami kerusakan dibandingkan dinding yang tersusun oleh fosfolipid. Menurut Helmiyati & Nurrahman (2010), dinding sel bakteri yang paling mudah rusak adalah dinding sel yang tersusun dari polisakarida dibandingkan dengan yang tersusun dari fosfolipid.

Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal tetapi tidak memiliki membran luar. Sedangkan pada bakteri gram negatif, memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan memiliki membran luar yang tersusun atas Lipopolisakarida dan protein. Hal ini sesuai dengan penelitian Hariani (2013) yang menunjukkan bahwa *L. plantarum* mempunyai aktivitas penghambatan lebih kuat terhadap *S. aureus* dengan rata-rata zona hambat 5,33 mm daripada *E. coli* dengan rata-rata zona

hambat 4 mm. Hartayanie *et al.* (2015) juga menyatakan bahwa BAL dari genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari makanan fermentasi asinan rebung memiliki kemampuan antimikroba lebih kuat terhadap *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 14,53 mm dan terhadap *E. coli* dengan zona hambat sebesar 10,93 mm.

Penggunaan antibiotik *ciprofloxacin* sebagai kontrol positif merupakan sebagai pembandingan efek antara obat antibiotik dengan supernatan bakteri asam laktat. Antibiotik *ciprofloxacin* menghasilkan zona hambat yang lebih besar dari pada supernatan bakteri asam laktat terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dikarenakan antibiotik berasal dari bakteri yang telah dilemahkan dan kemudian dapat membunuh bakteri lain yang ada dalam tubuh makhluk hidup. Mikroba terutama jamur adalah penghasil antibiotik yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan dari mikroba lain (Nastiti, 2011). Antibiotik bersifat bakterisida yaitu yang bekerja mematikan bakteri, sedangkan supernatan bakteri asam laktat bersifat bakteriostatik yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

Isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) berpotensi menghambat pertumbuhan

E. coli dan *S. aureus* dengan rata-rata zona hambat 7,76 mm dan 31,17 mm. Waktu inkubasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan kategori sedang dan sangat kuat adalah inkubasi 14 hari.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan agar melakukan penelitian untuk mengetahui potensi ekstrak metabolit isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁) dengan konsentrasi

berbeda. Serta dilakukan uji untuk mengetahui berbagai senyawa metabolit yang ada di isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. (KG6₁).

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, N. Yusmarini. dan P. Usman. 2007. Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum*
<https://media.neliti.com/media/publications/202528-none.pdf>

Agustini, N.W.R. Kusmayati. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *J Biod.* 8(1) : 48 – 53. Diunduh dari
<https://smujo.id/biodiv/article/download/481/503/501>

Daeschel, MA. 1989. Antimicrobial substance from lactic acid bacteria for use as food preservation. *J Food Technol.* 43: 148-155. Diunduh oleh
[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455q1t3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1351227](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455q1t3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1351227) Negatif.

Ekowati, C.N. 1998. Mikroflora pada Fermentasi Daging Buah Durian (Tempoyak). *Jurnal Sains dan Teknologi.* Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Fauziah, P.N. J. Nurhajati, dan Chrysanti. 2014. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella* i ATCC 700603, CT1538 dan S941. *MKB.* 47(1): 35-41. Diunduh dari
<http://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/view/395>

Galvez, A., H. Abriouel, R. L. Lopez, and N. B. Omar. 2007. Bacteriocin-base strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbio.* 120:51-70.

Hariani, L. 2013. Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan Aplikasinya

yang diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *E. coli* FNCC-19 dan *S. aureus* FNCC-15. *JOM Faperta.* 4(2) : 1-12.

Diunduh

ari

Jurnal Pangan dan Gizi. 1(01):1-6.

Diunduh

dari

<https://media.neliti.com/media/publications/116514-ID-pengaruh-konsentrasi-tawas-terhadap-pert.pdf>

Henri, Arreneuz, S. dan Zaharah, T.A., 2015, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *S. aureus* dan *E. Coli.* *Jurnal Kimia Khatulistiwa,* 4 (1), 84-90. Diunduh

dari

<http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmi/pa/search/authors/view?firstName=Henri%2C&middleName=&lastName=Savante%20Arreneuz%2C%20Titin%20Anita%20Zaharah&affiliation=&country=>

sebagai Pengawet Daging. *El-Hayah* 4(1): 17-25

Hartayanie, L., Lidayani., Muniarti, M.P. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Asinan Rebung Bambu Betung yang Difermentasi pada Hidayat, N., Masdiana, C. Padaga, Sri S. 2006. *Mikrobiologi Industri.* C. V Andi Offset. Yogyakarta.

Helmiyati, A.F. dan Nurrahman. 2010. Pengaruh Konsentrasi Tawas terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Larsen, AG. Vogensen FK, Josephsen J. 1993. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *Journal of Applied Bacteriology* 75: 113-22. Diunduh

- dari https://www.researchgate.net/publication/263919613_Subjective_well-being
- Mulyadi, Sulistyani, N, 2013, Aktivitas Cairan Kultur 12 Isolat *Actinomyces* terhadap bakteri resisten. Kesehatan masyarakat.vol. 7, no. 2, hal. 55112.
- Nasititi, F. H. L. 2011. Pola dan Kerasionalan Penggunaan Antimikroba pada Pasien Balita di Puskesmas Kecamatan Jatinegara. Skripsi. Program Studi Ekstensi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok.
- Narimo, Sari, R, Apridamayanti, P. 2019. UjiAktivitas Antibakteri Bakteriosin dari *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* TerhadapBakteri Patogen Gram Negatif. *JurnalMahasiswaFarmasi FakultasKedokteran Untan*. Vol 4, No 1. Diunduhdari <https://journals.ums.ac.id/index.php/varidika/article/view/8902>
- Permatasari, I. 202. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Tempoyak Durian Pekawai (*Durio kutejensis*) yang Difermentasi dengan KonsentrasiGaram Berbeda. Skripsi. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Poeloengan, M dan Andriani. 2013. KandunganSenyawa Aktif dan Daya AntibakteriDaun Sambung Darah. *JurnalVeteriner*. 14(2):145-152. Diunduh dari <https://onsearch.id/Author/Home?author=Poeloengan%2C+Masniari>
- Ramesh, C. Ray DM. 2015. Food Biology Series. 108–109. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Rios, J.L. Recio, MC & Villar, A, 1988. Screening methods for natural product with antimicrobial (A Review of

Literature), *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 23, hal. 127-149.

Saranya, S and N Hemashenpagam. 2011. Antagonistic Activity and Antibiotic Sensitivity of Lactic Acid Bacteria from Fermented Dairy Product. PelagiaResearch Library. *Advances in Applied Science Research* 2(4), 528-534.

Sarkono, L. Sembiring, dan E. S. Rahayu. 2006. Isolasi, Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi bakteri asam laktat Penghasil Bakteriosin dari Berbagai Buah Masak. *Saint dan Sibermatika*. Vol19(2): 223-242.

Diunduh dari <https://scholar.google.co.id/citations?user=pXPcFkcAAAAJ&hl=id>

Song, YB, Suh, MK, Ha, GY & Kim, H, 2015,

Antifungal susceptibility testing with etest for *Candida* species isolated from patients with oral candidiasis. *Annals of Dermatology*, vol. 27, no.6, hal. 715-720. Diunduh

dari <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.12.014>

Zalán, Z. Németh, E. Baráth, A. dan Halász, A.2005. Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains. *Food Technology and Biotechnology* 43(3):219-225. Diunduh

dari https://www.researchgate.net/publication/228358747_Influence_of_Growth_Medium_on_Hydrogen_Peroxide_and_Bacteriocin_Production_of_Lactobacillus_Strain