

Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Pangan *Pliek U* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan Khamir *Candida albicans* secara *in Vitro*

In Vitro Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Isolates That Are Insulated from Pliek U Food Against Pathogenic Microbes Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albican

Annisa Ammalia Kiti^{*1}, It Jamilah², Herla Rusmarilin³

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ubudiyah Indonesia, Jalan Alue Naga, Banda Aceh, Indonesia

²Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara

³Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara

*Korespondensi Penulis: annisaammaliakiti@uui.ac.id

Abstrak

Bakteri asam laktat (BAL) telah diisolasi dari pangan khas Aceh *pliek u*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat dan menguji aktivitas antimikroba BAL terpilih yang diisolasi dari *pliek u* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan khamir *Candida albicans*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat BAL terpilih dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, namun tidak dapat menghambat *C. albicans*. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekeliling isolat BAL terpilih. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *Staph. aureus* dan *E. coli* berturut-turut yaitu ditunjukkan oleh isolat SP3 sebesar 7.7 mm dan SP5 sebesar 28 mm, sedangkan zona hambat terendah berturut-turut ditunjukkan oleh isolat SP4 dan SP5 sebesar 0.25 mm dan SP2 sebesar 1.5 mm.

Kata kunci : *pliek u*, bakteri asam laktat, bakteri patogen, aktivitas antimikroba

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) have been isolated from typical Acehnese food. This study aimed to determine the inhibitory potency and to examine antimicrobial activity of the selected LAB isolated from pliek u against bacteria Staphylococcus aureus, Escherichia coli and yeast Candida albicans. The results showed that the selected LAB isolates could inhibit the growth of the two test bacteria, but could not inhibit C. albicans. This is indicated by the formation of a clear zone around the selected BAL isolates. The biggest inhibition zone for Staph. aureus and E. coli bacteria consecutively were shown by isolates SP3 7.7 mm and SP5 28 mm, while the lowest inhibition zones were shown by isolates SP4 and SP5 0.25 mm and SP2 1.5 mm.

Keywords: pliek u, lactic acid bacteria, pathogen bacteria, antimicrobial activity

PENDAHULUAN

Pliek u merupakan salah satu pangan khas yang berasal dari Provinsi Aceh, Indonesia yang dihasilkan secara tradisional dari fermentasi daging buah kelapa. Selama berabad-abad pengetahuan mengenai teknologi fermentasi tradisional umumnya diturunkan dari satu generasi ke generasi selanjutnya. Produk fermentasi *pliek u* menjadi bagian yang tidak terpisahkan dari menu makanan sehari-hari masyarakat Aceh, biasanya *pliek u* dimanfaatkan sebagai bumbu untuk memasak sayur (*gulé pi'u*), sambal dan bumbu rujak. Diduga selama proses pengolahan pangan tersebut telah terjadi berbagai perubahan terhadap komposisinya, sehingga menghasilkan berbagai metabolit yang mempunyai aktivitas antimikroba. Senyawa tersebut dapat terbentuk dari bahan baku ataupun juga dihasilkan oleh mikroba selama proses fermentasi, karena proses fermentasi makanan erat kaitannya dengan mikroorganisme atau enzim. Senyawa-senyawa yang dihasilkan secara alami oleh mikroba tersebut dapat diekstraksi dan dipurifikasi, serta dapat digunakan untuk mengawetkan makanan dan sebagai bahan antimikroba (Nurliana, 2009).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu kelompok mikroba yang berperan penting dalam proses fermentasi berbagai jenis makanan tradisional. BAL telah lama dikenal dan digunakan oleh manusia dalam proses pengolahan pangan yang menghasilkan produk dengan kualitas yang jauh lebih baik dan lebih disukai daripada bahan bakunya. Bakteri ini memberikan kontribusi terhadap karakteristik yang khas terhadap produk pangan seperti aroma, rasa, tekstur dan masa simpan produk yang lebih tahan lama. Bila ditinjau dari nilai gizinya, produk fermentasi BAL menghasilkan komponen-komponen nutrisi yang lebih mudah dicerna serta diproduksinya senyawa-senyawa yang bermanfaat oleh mikroorganisme yang terlibat di dalamnya (Wirawati, 2002; Jay *et al.*, 2005; Hutkins, 2006).

Keberadaan BAL dalam bahan pangan hasil fermentasi menghasilkan berbagai jenis senyawa metabolit yang dapat berperan sebagai antimikroba, sehingga dapat menghambat atau mengontrol pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan kehadirannya, seperti mikroba patogen dan perusak bahan pangan. BAL menghasilkan komponen antimikroba seperti asam organik (asam laktat, asam asetat, asam propionat), hidrogen peroksida dan bakteriosin (Ray dan Bhunia, 2008; Amezcuita dan Brashears, 2002; dan Vuyst dan Leroy, 2007).

BAL yang diisolasi dari berbagai pangan tradisional telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis mikroba patogen. Bettache *et al.* (2012)

menyatakan bahwa hasil isolasi BAL dari *dhan*, mentega susu fermentasi tradisional yang berasal dari Negara Algeria Barat ditemukan genus *Leuconostoc* sebanyak 8 isolat, *Lactococcus* 13 isolat dan 35 isolat *Lactobacillus*. Ketiga genus tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Listeria innocua*. Selanjutnya BAL yang diisolasi dari berbagai makanan tradisional di Indonesia seperti gatot, growol, tempoyak, peda, bekasam, tape, tempe, wadi dan terasi umumnya didominasi oleh *L. plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Pediococcus acidilactici*. Dari hasil skrining, diketahui bahwa *L. plantarum* TGR-2 yang diisolasi dari growol dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat berbagai jenis bakteri patogen yang diujikan (Rahayu *et al.*, 1996, 2000; Wirawati, 2002; Rahayu, 2003; Wikandari *et al.*, 2012; dan Putri *et al.*, 2012). *Lactobacillus plantarum* ATCC 25927 yang diisolasi dari *ogi*, makanan tradisional yang difermentasi dari jagung dapat menghambat *Candida albicans* dengan zona hambat 22 mm (Oluwafemi dan Adetunji, 2011).

BAL *indigenus* yang diisolasi dari pangan *pliek u* diharapkan dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroba patogen, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba isolat BAL yang diisolasi dari *pliek u* yaitu bahan pangan khas yang berasal dari Provinsi Aceh yang diolah secara tradisional dari daging buah kelapa dengan fermentasi spontan dan menguji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan khamir *Candida albicans*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah penelitian eksperimental laboratorium, data yang digunakan ialah data primer, yaitu semua data yang diperoleh secara langsung dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti. Selanjutnya data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Biologi Universitas Sumatera Utara (USU) dan Laboratorium Biologi Balai Teknis Kesehatan Lingkungan dan Pemberantasan Penyakit Menular (BTKL dan PPM) Medan.

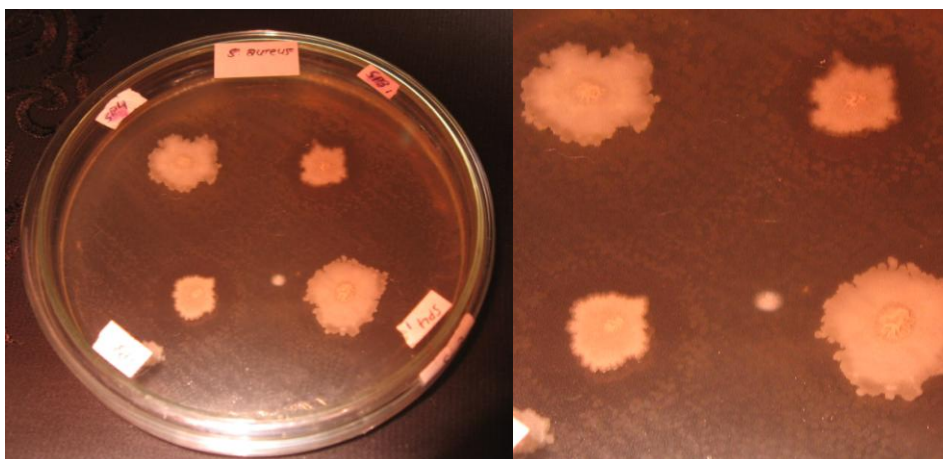
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah *pliek u* yang diperoleh dari Desa Geundering Kecamatan Darul Imarah, Aceh Besar, Indonesia. *Pliek u* tersebut dibuat melalui 3 tahapan (Nurliana, 2009). Medium yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba

isolat BAL ialah *mueller hinton agar* (MHA). Kultur bakteri uji yang digunakan ialah isolat klinis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan khamir *Candida albicans*, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU.

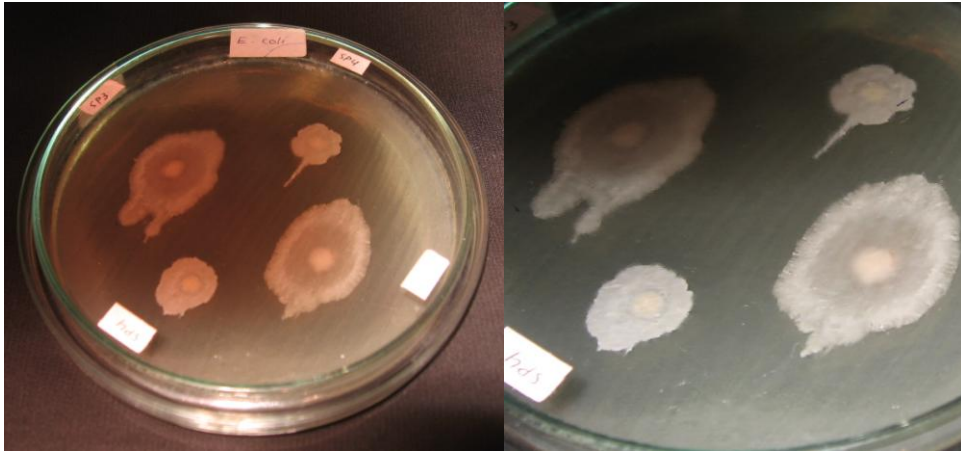
Isolat-isolat BAL yang telah diisolasi diuji daya hambatnya terhadap bakteri *Staph. aureus*, *E. coli* dan khamir *C. albicans* secara *in vitro*. Pada uji ini lempengan agar MHA disemai dengan suspensi bakteri uji dengan konsentrasi 10^8 sel/ml (yang terlebih dahulu disetarakan dengan larutan Mc. Farland) menggunakan *cotton swab* steril. Isolat yang sudah ditandai diinokulasi dengan cara ditotolkan menggunakan tusuk gigi steril pada medium MHA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya zona bening, selanjutnya diukur zona bening tersebut menggunakan jangka sorong (Lay, 1994; dan Santoso, 2008 dengan modifikasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

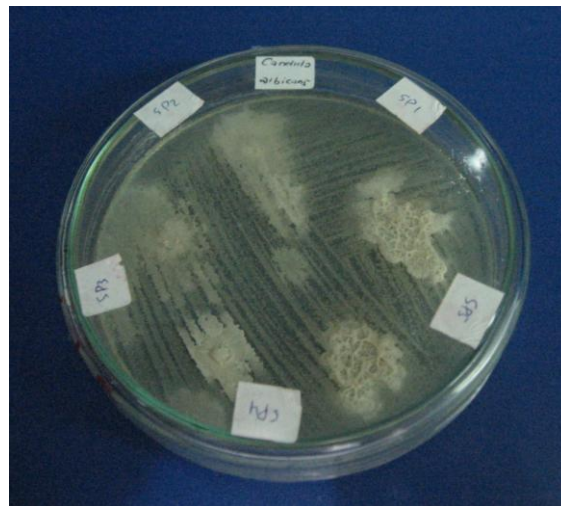
Pengujian antimikroba isolat BAL yang diisolasi dari pangan *pliek u* dilakukan secara *in vitro* terhadap isolat klinis bakteri Gram positif *Staph. aureus*, bakteri Gram negatif *E. coli* dan khamir *C. albicans*. Hasil pengujian menunjukkan adanya zona penghambatan yang ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni isolat BAL terpilih setelah diinkubasi selama 24-48 jam, baik pada kultur *Staph. aureus* (Gambar 1) maupun *E. coli* (Gambar 2). Penghambatan tersebut diduga disebabkan karena aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh isolat BAL tersebut. Namun, zona hambat tidak ditemukan pada pengujian terhadap khamir *C. albicans* (Gambar 3).



Gambar 1. Uji *in vitro* isolat BAL terpilih terhadap *Staph. aureus*



Gambar 2. Uji *in vitro* isolat BAL terpilih terhadap *E. coli*



Gambar 3. Uji *in vitro* isolat BAL terpilih terhadap khamir *C. albicans*

Diameter zona hambat yang dibentuk oleh isolat BAL terpilih terhadap *Staph. aureus* dan *E. coli* bervariasi, hasil pengukuran diameter zona bening dapat dilihat pada Tabel 1. Besar zona hambat untuk bakteri *Staph. aureus* berturut-turut yaitu 0.25, 4.6, 7 dan 7,7 mm, sedangkan besar zona hambat untuk bakteri *E. coli* berturut-turut yaitu 1.5, 2.5 dan 28 mm. Penghambatan tertinggi terhadap *Staph. aureus* ditunjukkan oleh isolat SP3 yaitu sebesar 7.7 mm, sedangkan penghambatan terendah yang terukur ditunjukkan oleh isolat SP4 dan SP5 yaitu 1,5 mm. Penghambatan tertinggi terhadap *E.coli* ditunjukkan oleh isolat SP5 yaitu sebesar 28 mm, sedangkan penghambatan terendah ditunjukkan oleh isolat SP2 yaitu sebesar 1.5 mm.

Adanya aktivitas antimikroba dapat diketahui dengan timbulnya zona bening di sekitar koloni isolat-isolat BAL setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada uji antagonis. Terbentuknya zona bening menyebabkan bakteri *Staph. aureus* dan *E. coli* tidak dapat tumbuh di sekeliling isolat BAL. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa asam ataupun komponen metabolit dari isolat BAL terpilih mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji tersebut. Penghambatan yang ditunjukkan oleh isolat BAL tersebut diduga disebabkan telah terjadi perubahan pH karena dihasilkannya asam-asam organik selama fermentasi. Menurut Salminen *et al.* (2007), fermentasi oleh BAL mengurangi jumlah karbohidrat yang tersedia dan menghasilkan komponen organik dengan bobot molekul rendah yang menunjukkan aktivitas antimikroba.

Tabel 1. Zona Hambat Uji Antimikroba Isolat Bal Terpilih terhadap Mikroba Patogen

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)					
	<i>E. coli</i>		<i>Staph. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	Lama Inkubasi (jam)					
	24	48	24	48	24	48
SP1	2,5	2,5	Sedikit sekali zona	Sedikit sekali zona	-	-
SP2	1,5	1,5	7	7	-	-
SP3	-	-	4,6	7,7	-	-
SP4	-	-	Sedikit sekali zona	0,25	-	-
SP5	28	28	Sedikit sekali zona	0,25	-	-

De Vuyst dan Vandamme (1994) menyatakan asam laktat merupakan salah satu senyawa inhibitor yang dihasilkan BAL dan merupakan produk akhir utama dari katabolisme karbohidrat, karena dari proses konversi sumber karbon ini dihasilkan setidaknya 50% asam laktat, sehingga kelompok bakteri ini dinamakan bakteri asam laktat. Asam yang dihasilkan selama proses metabolisme oleh BAL akan menyebabkan penurunan pH dan menyebabkan mikroba patogen maupun perusak bahan pangan yang umumnya tidak tahan suasana asam akan terhambat. Akumulasi produk akhir berupa asam mengakibatkan turunnya pH dan akan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Aktivitas asam-asam lipofilik seperti asam laktat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba, dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi, berdisosiasi menghasilkan ion-ion hidrogen dan

mengganggu fungsi metabolit esensial, translokasi substrat dan fosforilasi oksidatif sehingga mereduksi pH intraseluler.

Selain itu Delgado *et al.* (2001) menyebutkan bahwa aktivitas penghambatan tersebut dapat terjadi karena adanya akumulasi metabolit primer berupa asam laktat, etanol dan karbondioksida ataupun karena adanya metabolit sekunder berupa senyawa hidrogen peroksida dan bakteriosin. Alokami *et al.* (2000) menambahkan bahwa, zona bening di sekitar isolat BAL dapat terbentuk karena aktivitas senyawa antimikrobia yang bersifat bakterisidal yaitu berupa asam organik. Asam organik tersebut mampu mempengaruhi sitoplasma sel mikroba patogen menjadi asam dan menghambat potensial transmembran dan transport substratnya.

Proses fermentasi yang umumnya melibatkan BAL memiliki ciri khusus yaitu berupa terakumulasinya asam organik yang disertai dengan adanya perubahan nilai pH menjadi lebih rendah (asam) (Purwandani dan Rahayu, 2003). Pada kasus senyawa antimikroba dari BAL, zona bening dengan batas tepi lingkaran yang jelas dan tegas disebabkan oleh adanya aktivitas senyawa bakteriosin, karena bakteriosin ini memiliki sifat *single hit inactivation* yang berarti satu molekul bakteriosin dapat membunuh satu sel bakteri indikator (Ray dan Bhunia, 2005). Bakteriosin tersebut juga dapat mencegah sintesis peptidoglikan yang utuh, sehingga dinding sel bakteri gram positif akan melemah dan akibatnya sel bakteri akan mengalami lisis (Napitupulu *et al.*, 2000), sedangkan pada zona hambat yang terbentuk pada uji antimikroba terhadap bakteri *Staph. aureus* terlihat dengan tepi lingkaran yang keruh disebabkan oleh adanya aktivitas asam. Keruhnya zona hambat tersebut diduga dapat disebabkan karena rendahnya konsentrasi asam laktat yang dihasilkan oleh isolat BAL tersebut, sehingga mengakibatkan turunnya aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji (Ray, 2005).

Asam laktat yang dihasilkan oleh isolat BAL berdifusi masuk ke dalam media tumbuh bakteri uji, sehingga dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri patogen tersebut. Kerusakan membran sel mengakibatkan nutrisi yang dibutuhkan bakteri uji untuk tumbuh tidak dapat diabsorpsi sehingga proses metabolisme tidak berjalan sebagaimana mestinya dan mengakibatkan pertumbuhannya akan terhambat. Perbedaan aktivitas antimikroba BAL terhadap beberapa mikroba uji didasarkan pada perbedaan struktur penyusun dinding sel mikroba uji, konsentrasi senyawa antimikroba yang berbeda juga dapat menghasilkan zona hambat yang berbeda pula (Kasi *et al.*, 2017)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari pangan *pliek u* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Staph. aureus* dan bakteri Gram negatif *E. coli*, namun tidak dapat menghambat khamir *C. albicans*. Penghambatan paling besar terhadap *E.coli* ditunjukkan oleh isolat BAL SP5 yaitu sebesar 28 mm, sedangkan penghambatan yang paling rendah ditunjukkan oleh isolat BAL SP2 yaitu sebesar 1.5 mm. Penghambatan terbesar terhadap *Staph. aureus* ditunjukkan oleh isolat SP3 yaitu sebesar 7.7 mm, sedangkan penghambatan terendah ditunjukkan oleh isolat BAL SP4 dan SP5 yaitu sebesar 0.25 mm. Perbedaan aktivitas penghambatan ini salah satunya disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada kedua dinding sel bakteri tersebut.

SARAN

Saran yang diajukan pada penelitian ini ialah diperlukan pengujian aktivitas antimikroba isolat BAL terpilih terhadap spesies mikroba patogen lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alokami, H.L., Skytta E., Saarela M., Matilla-Sandhlof T., Latva-Kala K., Helander I.M. 2000. Lactic acid permeabilizes gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(5) : 2001-2005.
- Amezquita, A. dan M.M. Brashears. 2002. Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *J. Food Protect.* 65 (2): 316-325.
- Bettache, G., A. Fatma, H. Miloud dan K. Mebrouk. 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World App. Scie. J.* 17 (4): 480-488.
- Delgado, A., Brito D., Fevereiro P., Peres C., Marques J.F. 2001. Antimicrobial activity of *L. plantarum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives. *INRA, EDP Sci.* 81(1): 2013-215.
- De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. 1994. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: Microbiology, Genetics and Applications.* London, Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall.
- Hutkins, R. W. 2006. *Microbiology and technology of fermented food.* Australia, Blackwell Publishing Asia.
- Jay, J.M., Martin, J.L. dan David, A.G. 2005. *Modern food microbiology.* Seventh Edition. New York, Springer.
- Kasi, P.D., Ariandi, dan Heni, M. 2017. Uji antibakteri isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen. *J. Biotropikal.* 5 (3): 97-101.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis mikroba di laboratorium.* Jakarta, PT RajaGrafindo Persada.
- Napitupulu, N., Yulinery T., Hardiningsih R. 2000. *Pengaruh lama penyimpanan, suhu dan media terhadap kemampuan antibakteri yang dihasilkan Lactobacillus dalam*

- menghambat beberapa bakteri patogen. Proyek Penelitian Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Bogor*
- Nurliana. 2009. Prospek makanan tradisional aceh sebagai makanan kesehatan: eksplorasi senyawa antimikrob dari minyak *pliek u* dan *pliek u*. *Disertasi*. Prodi Sains Veteriner, Sekolah Pascasarjana, Bogor, IPB.
- Oluwafemi, F. dan Adetunji AF. 2011. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria isolated from traditionally-fermented maize (ogi) against *Candida albicans*. *J. Appl. Biosci.* 41: 2820-2835.
- Purwandani, S.N., Rahayu E. 2003. Isolasi dan seleksi *Lactobacillus* yang berpotensi sebagai agen probiotik. *J. Agritech.* 23(2) : 67-74.
- Putri, W.D.R., Haryadi, D.W. Marseno, dan M.N. Cahyanto. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat amilolitik selama fermentasi growol, makanan tradisional Indonesia. *J. Tek. Pertanian.* 13 (1): 52-60.
- Rahayu, E.S., T.F. Djaafar, D. Wobowo, dan S. Sudarmadji. 1996. Lactic acid bacteria from indigenous fermented foods and their antimicrobial activity. *Abstract. Indonesian Food and Nutrition Progress.* 3: 21-28.
- , E.S., S. Okada, T. Uchimura, dan K. Komagata. 2000. Lactic acid bacteria in fermented foods of Indonesian Origin. *Abstract. Ninth International Congress for Culture Collections, Brisbane, 23-28 Juli.*
- , E.S. 2003. Lactic acid bacteria and their potential benefits: reserach activities. *Abstract. Second Asian Conference on Lactic Acid Bacteria. Taiwan, 14-15 November.*
- Ray, B. 2005. *Fundamental Food Microbiology*. 3rd Edition. Taylor & Francis
- , dan A. Bhunia. 2008. *Fundamental Food Microbiology*. Fourth Edition. New York, CRC Press.
- Salminen, S., A. V. Wright, dan A. Ouwehand. 2007. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd ed. New York, Dekker.
- Santoso, E. 2008. Bakteri asam laktat (BAL) pada cumi-cumi kering asin dan aktivitas penghambatannya terhadap bakteri patogen dan bakteri pembusuk. *Agroteksos.* 18(1-3): 46-53.
- Vuyst, L.D dan F. Leroy. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13 (4):194-199.
- Wikandari, P.R., Suparmo, Y. Marsono, dan E.S. Rahayu. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *J. Natur Indonesia.* 14 (2): 120-125.
- Wirawati, C.U. 2002. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari tempoyak sebagai probiotik. *Tesis*. Bogor, IPB.
- Yavuzdurmaz, H. 2007. Isolation, characterization, determination of probiotic properties of lactic acid bacteria from human milk. *Master Thesis*. Izmir, Turkey, Izmir Institute of Technology.