Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen

Pauline Destinugrainy Kasi[1*], Ariandi [1], Heni Mutmainnah [1]

[1] Program Studi Biologi, Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palop*o*

[*] Alamat korespondensi : destinugrainy@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) telah diisolasi dari limbah cair sagu. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri isolat BAL yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* (bakteri gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif). Isolat BAL yang akan diuji terdiri atas isolat F1 dan F3 (yang diisolasi dari limbah cair sagu yang disimpan selama 1 hari dan 3 hari). Hasil uji antibakteri menunjukkan adanya zona penghambatan berupa zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang mengandung isolat BAL F1 menunjukkan daya hambat hampir sama terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* (berturut-turut 22 dan 23 mm). Sedangkan pada isolat F3 daya hambat terhadap bakteri *E.coli* (25 mm) lebih besar dibandingkan terhadap *S. aureus* (16 mm). Kedua isolat BAL tersebut berpotensi sebagai starter probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Kata kunci : bakteri asam laktat, uji antibakteri, bakteri patogen, limbah cair sagu

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (BAL) have been isolated from sago liquid waste. This research aims to test the antibacterial activity of LAB isolates from sago liquid waste against pathogenic bacteria Escherichia coli (gram-negative bacteria) and Staphylococcus aureus (gram-positive bacteria). LAB isolates to be tested consisted of F1 and F3 isolates (isolated from sago liquid waste stored for 1 day and 3 days respectively). The result of the antibacterial test showed the zone of inhibition in the form of a clear zone around the disc paper containing LAB isolates F1 showed similar resistivity to E. coli and S. aureus bacteria (22 and 23 mm respectively). Whereas isolate F3 the inhibitory power to E. coli bacteria (25 mm) was bigger compared to S. aureus (16 mm). Both isolates of BAL have the potential as a probiotic starter to inhibit the growth of pathogenic bacteria.

Keywords : Lactic acid bacteria, antibacterial test, pathogen bacteria, sago wastewater.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, tidak berspora, tidak memiliki katalase, berbentuk kokus atau batang, tidak mempunyai sitokrom, pertumbuhannya bersifat anaerobik hingga anaerobik fakultatif, membutuhkan nutrisi yang kompleks seperti asam-asam amino, vitamin B1, B6, B12, dan biotin, purin, dan pirimidin. BAL dapat memetabolisme berbagai jenis gula dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utamanya selama proses fermentasi. BAL dibedakan menjadi 2 grup yaitu grup homofermentatif jika produk akhir utama adalah asam laktat, dan grup heterofermentatif jika menghasilkan etanol dan CO_2 disamping asam laktat sebagai produk akhir [1].

BAL dengan strain tertentu juga memiliki sifat fungsional sebagai probiotik. Syarat bakteri probiotik adalah tidak bersifat patogenik dan toksigenik, juga mampu menempel dan kolonisasi di saluran pencernaan, dapat memanfaatkan nutrien pada substrat yang ada, dapat bertahan selama sistem pencernaan, memiliki viabilitas yang baik dalam bentuk utuh di dalam tubuh pengonsumsi, memberikan efek menguntungkan kepada *host* atau pengonsumsinya dengan mencegah infeksi atau penyakit, meningkatkan kesehatan atau meningkatkan nutrisi [2].

Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan

pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat antibakteri [3]. Sebagian dari senyawa-senyawa tersebut memperlihatkan aktivitas antimikrobia terhadap banyak mikroorganisme patogen makanan seperti *Bacillus cereus, Clostridium botulinum, Pseudomonas* , dan lain-lain [4]. Selain itu bakteri asam laktat juga menghasilkan karbondioksida yang dapat menghambat bakteri perusak dan patogen makanan dengan menyebabkan lingkungan lebih anaerob dan merusak permeabilitas membran sel [5]. Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat berpotensi untuk digunakan sebagai pengawet makanan [6].

Limbah cair sagu diperoleh dari pengolahan sagu secara semi tradisional. Petani lokal biasanya menggunakan air sungai atau air sumur galian yang tidak terjamin kebersihannya untuk mengekstraksi pati sagu [7]. Air yang memiliki kualitas buruk tersebut memacu pertumbuhan bakteri patogen pada tepung sagu basah. Akibatnya kualitas tepung sagu industri lokat bermutu rendah. Peningkatan mutu sagu dapat menggunakan metode bioreservatif dengan memanfaatkan peran BAL. Suseno [8] menyebutkan bahwa pemanfaatan BAL yang diisolasi dari air rendaman ekstraksi pati sagu dapat digunakan sebagai starter fermentasi sagu untuk meningkatkan kualitas tepung sagu.

BAL indigenous yang diisolasi dari limbah cair sagu diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada tepung sagu itu sendiri. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat BAL yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*E. coli* dan *S. aureus.*)

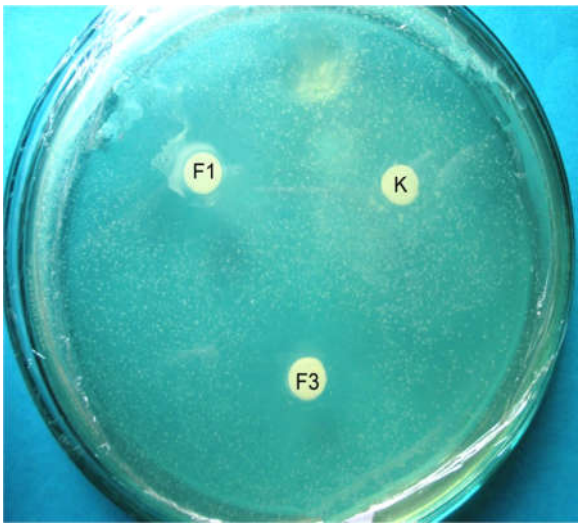
METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palopo pada bulan Juli – Oktober 2017. Isolat bakteri asam laktat diperoleh dari limbah cair sagu dari pengolahan sagu tradisional di Kecamatan Malangke Kabupaten Luwu Utara Sulawesi Selatan, yang telah difermentasi selama 1 hari (F1) dan 3 hari (F3). Isolat bakteri uji berupa isolat *E. coli* dan *S. aureus* diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

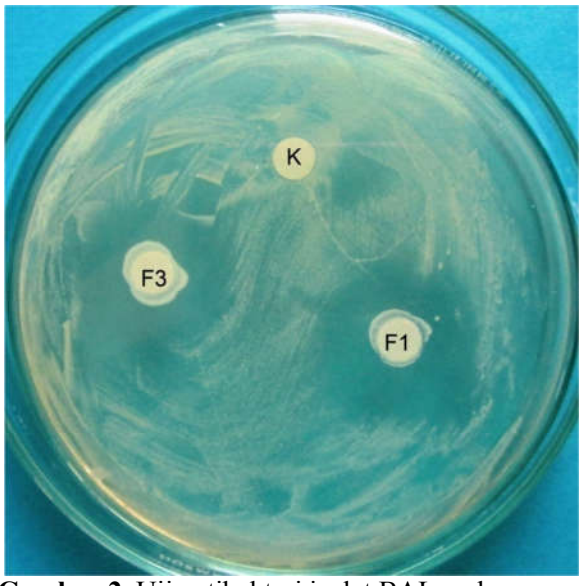
Masing-masing isolat BAL diambil sebanyak 3-4 ose lalu dilarutkan di dalam 5 ml akuades steril. Selanjutnya kertas cakram berdiameter 6 mm direndam di dalam larutan isolat BAL selama 15 menit. Sebagai kontrol digunakan kertas cakram yang direndam didalam akuades steril. Sebanyak 3-4 ose bakteri patogen dilarutkan di dalam akuades steril dan dihomogenkan, lalu diambil 1 ml larutan bakteri patogen dan disebar di permukaan media MRS, didiamkan selama 5 menit, lalu kertas cakram diletakkan di permukaan media. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram merupakan zona penghambatan BAL terhadap bakteri patogen [9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji anti bakteri isolat BAL diperoleh dari limbah cair sagu yang difermentasi selama 1 hari (F1) dan 3 hari (F3) dilakukan pada dua jenis bakteri patogen yaitu *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *S. aureus* (bakteri gram positif). Hasil pengujian menunjukkan adanya zona penghambatan berupa zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang mengandung isolat BAL, baik pada kultur bakteri *E.coli* (Gambar 1) dan kultur bakteri *S. aureus* (Gambar 2)



Gambar 1. Uji antibakteri isolate BAL pada bakteri *E. coli*



Gambar 2. Uji antibakteri isolat BAL pada bakteri *S. aureus*

Tabel 1. Zona penghambatan uji antibakteri isolat BAL

Isolat BAL	Zona penghambatan (mm)	
	E. coli	*S. aureus*
F1	22	23
F3	25	16

Berdasarkan besarnya zona penghambatan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat F1 menunjukkan daya hambat hampir sama terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* (berturut-turut 22 dan 23 mm). Sedangkan pada isolat F3 daya hambat terhadap bakteri *E.coli* (25 mm) lebih besar dibandingkan terhadap *S. aureus* (16 mm).

Pada limbah cair sagu masih terdapat pati sagu yang ikut terbawa pada saat pencucian. Hasil akhir fermentasi spontan yang terjadi pada saat penyimpanan selama 1 hari dan 3 hari berupa beberapa komponen yang memiliki sifat antibakteri. Aktivitas penghambatan dapat terjadi karena akumulasi metabolit primer berupa asam laktat, etanol dan karbondioksida ataupun karena metabolit sekunder berupa senyawa hidrogen peroksida dan bakteriosin [10]. Menurut Rachmawati *et al.* [11] bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari asinan sawi dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan membentuk zona bening. Zona bening terbentuk karena aktivitas senyawa antimikrobia yang bersifat bakterisidal berupa asam organik. Asam organik tersebut menyebabkan sitoplasma sel bakteri patogen menjadi asam dan menghambat potensial transmembran dan transport substrat [12].

Jika dilihat dari besaran zona penghambatan terhadap bakteri patogen gram positif dan gram negatif, baik isolat F1 maupun F3 memenuhi kriteria sebagai probiotik. Bakteri probiotik yang merupakan bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikroba. Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas yaitu terakumulasinya asam organik yang disertai dengan penurunan nilai pH. Efek antimikroba dari asam organik merupakan akibat dari turunnya nilai pH dan juga bentuk tidak terdisosiasi dari molekul asam organik [13]. Aktivitas penghambatan oleh senyawa antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekeliling kertas cakram. Zona bening yang terbentuk pada uji aktibakteri *S. aureus* terlihat zona bening dengan batas tepi lingkaran yang tegas dan jelas. Pada kasus senyawa antibakteri dari BAL, zona bening dengan batas tepi lingkaran yang jelas dan tegas disebabkan oleh adanya aktivitas bakteriosin, karena bakteriosin memiliki sifat *single hit inactivation* yang artinya satu molekul bakteriosin akan membunuh satu sel bakteri indikator [14]. Bakteriosin juga mencegah sintesis peptidoglikan yang utuh, sehingga dinding sel bakteri gram positif akan melemah dan akibatnya sel bakteri akan mengalami lisis [15]. Hasil yang didapatkan sesuai dengan penelitian Sutrisna [16] isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus itik mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus.*

Sedangkan pada zona bening yang terbentuk pada uji aktibakteri *E. coli* terlihat dengan tepi lingkaran yang keruh disebabkan oleh adanya aktivitas asam. Keruhnya zona bening tersebut dapat disebabkan rendahnya konsentrasi asam laktat yang dihasilkan oleh BAL sehingga mengakibatkan turunnya aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji [14]. Asam laktat berdifusi masuk ke dalam media tumbuh bakteri uji yang dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri patogen. Kerusakan membran sel mengakibatkan nutrisi yang dibutuhkan bakteri uji untuk tumbuh tidak dapat diabsorbsi sehingga proses

metabolisme tidak berjalan dan pertumbuhannya akan terhambat. Perbedaan aktivitas antimikrobia BAL terhadap beberapa mikrobia uji didasarkan pada perbedaan struktur penyusun dinding sel mikrobia, konsentrasi senyawa antimikrobia yang berbeda juga memberikan zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu.

KESIMPULAN

Hasil uji antibakteri bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *S. aureus* (bakteri gram positif) menunjukkan adanya zona penghambatan. Isolat F1 menunjukkan daya hambat hampir sama terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* (berturut-turut 22 dan 23 mm). Sedangkan pada isolat F3 daya hambat terhadap bakteri *E.coli* (25 mm) lebih besar dibandingkan terhadap *S. aureus* (16 mm). Kedua isolat BAL tersebut berpotensi sebagai starter probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi berdasarkan Surat Perjanjian Pelaksanaan Program Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2017 Nomor 1520/K9/KT.03/2017, dan atasnya diucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Surono, I.S. 2004. *Probiotik-susu fermentasi dan kesehatan*. Jakarta. Tri Cipta Karya.

[2] Hui, Y.H, Goddick M.L., Hansev A.S., Josephen J., Nip W.K., Stanfiels P.S., Toldra F. 2005. *Handbook of food and beverages fermentation technology*. New York. Marcel Dekker.

[3] Suskovic, J., Kos B., Beganovic J., Pavunc A.L, Habjanic K., Matosic S. 2010 Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technol. Biotechnol.* 48(3): 296-307.

[4] Jenie, B.S.L. 1996. Peranan bakteri asam laktat sebagai pengawet hayati makanan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 1(2): 60-73.

[5] Nilsson, L., Chen Y., Chikindas M.L., Huss H.H., Gram L, Montville TJ. 2000. Carbon dioxide and nisin act synergistically on *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 66(2): 769-774

[6] Tahara, T, Kanatani K. 1997. Isolation and partial amino acid sequence of bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61(5): 884-886.

[7] Awg-Adeni, D.S, Abd-Aziz S., Bujang K., Hassan M.A. 2010. Bioconversion of sago residue into value added products. *Afr.J. Biotechnol.* 14(9): 2016-2021.

[8] Suseno, D. 2015. *Pemanfaatan isolat bakteri alam Laktat indigenous sebagai starter untuk fermentasi sagu*. Thesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.

[9] Schved, F., Lalazar A., Hens Y. 1993. Purificaton, partial, characterization, and plasmids linkage of Pediococcins SJ-1, a bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 76(1) : 67-77.

[10] 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.

[11] Rachmawati, I., Suranto, Setyaningsih R. 2005. Uji antibakteri bakteri asam laktat asal asinan sawi terhadap bakteri patogen. *Bioteknologi* 2(2): 43-48.

[12] Alokami, H.L., Skytta E., Saarela M., Matilla-Sandhlom T., Latva-Kala K., Helander I.M. 2000. Lactic acid permeabilitzes gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(5) : 2001-2005.

[13] Purwandani, S.N., Rahayu E. 2003. Isolasi dan seleksi *Lactobacillus* yang berpotensi sebagai agen probiotik. *J. Agritech.* 23(2) : 67-74.

[14] Ray, B. 2005. *Fundamental Food Microbiology*. 3rd Edition. Taylor & Francis.

[15] 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

[16] Sutrisna, R., Ekowati N., Rahmawati D. 2013. Uji daya hambat isolasi bakteri asam laktat usus itik (*Anas domestica*) pada bakteri gram positif dan pola pertumbuhan isolat bakteri usus itik pada media MRS Broth. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 13(1): 52-59.