

Karakterisasi dan Optimasi Aktivitas Bakteriosin Isolat Bakteri Asam Laktat LG-90 Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending

Fiqita Mayliani, Dyah Fitri Kusharyati, Dini Ryandini

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman
Jl. dr. Suparno 63, Purwokerto, 53122
*Email : fiqita.mayliani@mhs.unsoed.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 23/07/2021
Disetujui : 15/06/2022

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are a group of Gram-positive bacteria that produce various active metabolites, including lactic acid, ethanol, hydroperoxides, and bacteriocins. Bacteriocin is a peptide that has a broad spectrum to inhibit the growth of pathogenic microbes. The ability of bacteriocins to inhibit microbial growth is influenced by various factors, including the concentration of antimicrobial substances, temperature, storage time, pH, and microbial properties. LG-90 isolated from mangrove sediments at Logending Beach located in Ayah Village, Ayah District, Kebumen Regency, is known to be capable of producing bacteriocins. This research aimed to determine the characteristics and identity of LG-90, the optimum time of bacteriocin production, and the optimum pH and temperature for bacteriocin activity of LG-90 as antimicrobial agents. This research used a survey method. The independent variable in this research was LAB LG-90 isolates and the dependent variable were the ability to produce bacteriocins and their antibacterial power. The main parameter observed was diameter of the inhibition zone and the supporting parameters were morphological, physiological, and biochemical properties of bacteria. Descriptive data analysis and characterization of bacterial isolates refers to *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The results showed that LG-90 from the mangrove sediments of Logending Beach had the similar phenetic characters as the genus *Lactobacillus*. Optimum bacteriocin production of LG-90 at an incubation time of 16 hours. Optimum antimicrobial activity of LG-90 bacteriocin at pH 6 and heating temperature of 40°C.

Key words: bacteriocin, isolate characteristics, lactic acid bacteria, mangrove sediments

Abstrak

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif yang menghasilkan berbagai metabolit aktif, di antaranya asam laktat, etanol, hidroperoksida, dan bakteriosin. Bakteriosin adalah suatu peptida yang mempunyai spektrum luas dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Kemampuan bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya konsentrasi zat antimikroba, suhu lingkungan, waktu penyimpanan, pH, dan sifat-sifat mikroba. Isolat BAL LG-90 diisolasi dari sedimen mangrove Pantai Logending yang terletak di Desa Ayah, Kecamatan Ayah, Kabupaten Kebumen, diketahui mampu menghasilkan bakteriosin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan identitas isolat BAL LG-90, waktu optimum produksi bakteriosin, serta pH dan suhu pemanasan optimum terhadap aktivitas bakteriosin isolat BAL LG-90 sebagai agen antimikroba. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode survei. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu isolat BAL LG-90 dan variabel tergantung yaitu kemampuan menghasilkan bakteriosin dan daya antibakteri. Parameter utama yang diukur yaitu diameter zona hambat dan parameter pendukung yaitu sifat morfologis, fisiologis, dan biokimiawi bakteri. Analisis data secara deskriptif dan karakterisasi isolat bakteri berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu isolat BAL LG-90 memiliki karakter fenetik serupa dengan genus *Lactobacillus*. Produksi bakteriosin isolat BAL LG-90 optimum pada waktu inkubasi 16 jam. Aktivitas optimum bakteriosin sebagai antimikroba pada pH 6 dan suhu pemanasan 40°C.

Kata kunci: bakteri asam laktat, bakteriosin, pH, suhu, sedimen mangrove

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk kokus atau batang, serta pertumbuhannya bersifat anaerob hingga fakultatif anaerob. BAL dapat memetabolisme berbagai jenis gula dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utamanya selama proses fermentasi (Kasi *et al.*, 2017). Ibrahim *et al.* (2015) menambahkan bahwa BAL menghasilkan berbagai metabolit aktif, di antaranya asam laktat, etanol, hidropersoksida, dan bakteriosin.

Bakteriosin merupakan suatu peptida antimikroba yang dihasilkan BAL selama fase pertumbuhan eksponensial hingga awal stasioner (Kursia *et al.*, 2020). Riadi *et al.* (2020) menambahkan bahwa bakteriosin mempunyai spektrum luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteriosin dapat bersifat bakterisida, bakteriostatik, fungisida, fungistatik atau menghambat germinasi spora bakteri.

Kemampuan bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan mikroba dipengaruhi beberapa faktor, di antaranya pH dan suhu pemanasan (Riadi *et al.*, 2020). Bakteriosin merupakan senyawa antimikroba yang stabil pada pH asam. Nilai pH dapat mempengaruhi struktur bakteriosin sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas antimikrobanya. Aktivitas bakteriosin dapat tetap stabil terhadap suhu pemanasan, karena struktur asam amino tertentu dapat tetap tidak terpengaruh oleh panas (Kusmarwati *et al.*, 2014).

BAL penghasil bakteriosin dapat diisolasi dari berbagai lingkungan, di antaranya adalah lingkungan mangrove. Ekosistem mangrove memiliki biodiversitas mikroorganisme yang tinggi dan berlangsung berbagai aktivitas seperti fotosintesis, fiksasi nitrogen, metanogenesis, serta produksi antibiotik dan enzim. Interaksi organisme dan lingkungannya menjadikan ekosistem mangrove sebagai lingkungan yang dinamis (Tari *et al.*, 2020).

Bakteri asam laktat telah diisolasi dari sedimen mangrove Pantai Logending, Kebumen (Kusharyati *et al.*, 2020). Isolat LG-90 berpotensi dalam menghasilkan bakteriosin, tetapi isolat belum teridentifikasi, waktu optimum produksi bakteriosin, dan kondisi optimum aktivitas bakteriosin sebagai agen antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan identitas isolat BAL LG-90, waktu optimum produksi bakteriosin, dan pH serta suhu pemanasan optimum yang menghasilkan aktivitas penghambatan tertinggi sebagai agen antimikroba.

MATERI DAN METODE

Alat-alat yang digunakan meliputi mikropipet, *microtube*, penangas air, oven, pH meter, *hot plate magnetic stirrer*, *waterbath thermostatic*, timbangan analitik, *shaker incubator*, autoklaf, mikroskop,

inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), spektrofotometer, centrifuge, dan alat gelas yang lazim digunakan dalam kerja mikrobiologi.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi isolat BAL LG-90, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, enzim papain, media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfide Indole Motility Agar* (SIMA), *Methyl Red* dan *Voges Proskauer* (MR-VP), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), kertas cakram 6 mm, akuades, reagen Gram, *malachite green*, reagen Kovac's, reagen *methyl red*, KOH 3%, *α-Naphtol*, reagen H₂O₂ 3%, reagen oksidase, CaCO₃, NaOH, HCl, spiritus, etanol 70%, dan *syringe filter* 0,22 µm.

Penelitian dilakukan menggunakan metode survei. Variabel bebas berupa isolat BAL LG-90 dan variabel tergantung yaitu kemampuan menghasilkan bakteriosin dan daya antibakteri. Parameter utama yang diukur yaitu diameter zona hambat dan parameter pendukung yaitu sifat morfologis, fisiologis, dan biokimiawi bakteri. Analisis data secara deskriptif dan karakterisasi isolat bakteri berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Cara Kerja Penelitian

Peremajaan BAL (Pelczar *et al.*, 2005)

Kultur BAL LG-90 ditumbuhkan pada media MRSA+CaCO₃ 1% dengan metode *streaking* dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 48 jam, kemudian diambil satu koloni dan diinokulasikan pada medium MRSB dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 48 jam.

Karakterisasi isolat BAL LG-90

Karakterisasi isolat BAL LG-90 meliputi karakterisasi makromorfologi, mikromorfologi, fisiologi, dan biokimiawi. Karakterisasi makromorfologi meliputi pengamatan morfologi koloni bakteri. Karakterisasi mikromorfologi meliputi pewarnaan Gram, endospora, dan uji motilitas bakteri. Karakterisasi fisiologi meliputi uji ketahanan suhu, ketahanan kadar garam, dan kebutuhan terhadap oksigen. Karakterisasi biokimiawi meliputi uji katalase, oksidase, indol, MR-VP, dan uji tipe fermentasi bakteri.

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri (modifikasi Kusmarwati *et al.*, 2014)

Isolat BAL sebanyak satu ose diinokulasikan ke dalam 10 mL medium NB, diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Kultur diambil 1 mL diinokulasi dalam 100 mL medium NB, diinkubasi pada *incubator shaker*, dan diamati pertumbuhannya dengan mengukur nilai Optical Density (OD) menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 625 nm setiap 2 jam. Kurva pertumbuhan dibuat berdasarkan *plotting* nilai OD dan waktu inkubasi dari jam ke-0 hingga ke-24 sehingga diperoleh fase-fase pertumbuhannya.

Penentuan waktu optimum produksi bakteriosin (modifikasi Sidabutar *et al.*, 2015)

Sebanyak 1 mL kultur BAL diinokulasikan pada 20 mL medium NB, diinkubasi pada suhu ruang selama 4, 10, 16, dan 24 jam. Kultur disentrifugasi dengan kecepatan 6720 G selama 15 menit pada suhu 4°C. Filtrat dinetralkan hingga pH 7,0 dengan menambahkan NaOH 1 N. Filtrat disterilkan dengan *syringe filter* berukuran pori 0,22 µm untuk memperoleh supernatan bakteriosin. Supernatan bakteriosin sebanyak 20 µL yang diperoleh pada tiap waktu inkubasi ditetaskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm, kemudian diletakkan di atas media MHA yang mengandung bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dihitung rata-ratanya dengan rumus berikut.

$$D \text{ (mm)} = \frac{D1 + D2}{2}$$

Keterangan:

- D : Rata-rata diameter zona hambat
D1 : Diameter vertikal zona hambat
D2 : Diameter horizontal zona hambat

Uji pengaruh enzim proteolitik terhadap aktivitas bakteriosin (modifikasi Kusmarwati *et al.*, 2014)

Supernatan bakteriosin sebanyak 200 µL dicampur dengan 20 µL larutan enzim papain (larutan enzim dibuat dengan cara melarutkan enzim dalam NaOH pH 7), lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Larutan disterilkan dengan *syringe filter* berukuran 0,22 µm ke dalam tabung steril. Larutan bakteriosin dan enzim sebanyak 20 µL ditetaskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm, diletakkan di atas medium MHA yang mengandung bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Diamati ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Uji aktivitas bakteriosin pada pH yang berbeda (modifikasi Kusmarwati *et al.*, 2014)

Sebanyak 5 mL supernatan bakteriosin kasar pada tabung yang berbeda, masing-masing diatur pada pH 3, 4, 5, 6, dan 7 menggunakan larutan NaOH atau HCl. Setelah diinkubasi selama 4 jam pada suhu ruang, selanjutnya aktivitas bakteriosin diuji menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dihitung rata-rata diameternya dengan rumus (3 – 1).

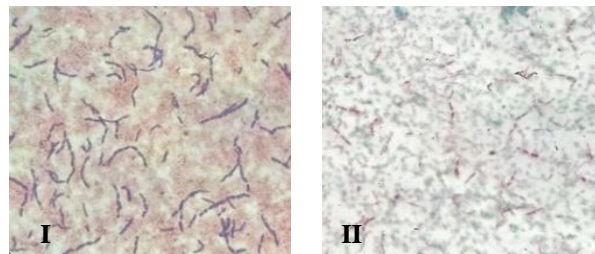
Uji aktivitas bakteriosin pada suhu pemanasan yang berbeda (modifikasi Kusmarwati *et al.*, 2014)

Sebanyak 5 mL supernatan bakteriosin masing-masing dipanaskan pada suhu 40°C, 60°C, 80°C, dan 100°C selama 30 menit di *waterbath thermostatic* dan 121°C selama 15 menit di autoklaf. Aktivitas bakteriosin kemudian diuji dengan metode difusi agar terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dihitung rata-rata diameternya dengan rumus (3 – 1).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan isolat BAL LG-90 pada medium MRSA yang diperkaya CaCO₃ 1% menunjukkan pertumbuhan koloni bulat berwarna putih susu (Tabel 1.). Isolat BAL LG-90 merupakan bakteri Gram positif yang tidak memiliki endospora. Bentuk selnya batang panjang membentuk susunan rantai (Gambar 1.).

Isolat BAL LG-90 bersifat fakultatif anaerob, katalase negatif, dan homofermentatif. Menurut Ibrahim *et al.* (2015), BAL merupakan bakteri yang pada umumnya bersifat fakultatif anaerob yang tumbuh pada kondisi sedikit oksigen. Menurut Surono (2016), *Lactobacillus* yang bersifat homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama metabolitnya. Hasil karakterisasi morfologi, fisiologi, dan biokimiawi berdasarkan Vos *et al.* (2009), isolat BAL LG-90 termasuk ke dalam genus *Lactobacillus* (Tabel 1.).



Gambar 1. Mikromorfologi isolat BAL LG-90

Keterangan: (I) Pewarnaan Gram isolat BAL-90 perbesaran 1000x
(II) Pewarnaan endospora isolat BAL-90 perbesaran 1000x

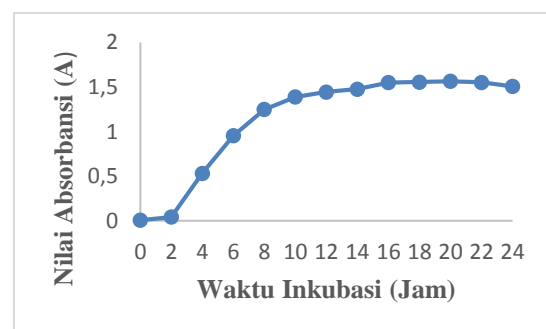
Tabel 1. Karakterisasi fenetik isolat BAL LG-90

| Karakterisasi Isolat BAL LG-90 | | |
|--|-------------------|----------------------|
| | Karakteristik | Hasil Pengamatan |
| Makromorfologi | Permukaan koloni | Halus mengkilap |
| | Bentuk koloni | Sirkular |
| | Warna koloni | Putih susu |
| | Elevasi koloni | Cembung |
| | Tepi koloni | Rata |
| | Ukuran koloni | Kecil |
| | Optik koloni | <i>Opaque</i> |
| | Pigmentasi | - |
| Mikromorfologi | Gram | Positif |
| | Bentuk sel | Batang |
| | Susunan sel | <i>Strepto</i> |
| | Endospora | - |
| | Motilitas | + |
| Fisiologi | Suhu 5°C | - |
| | Suhu 37°C | + |
| | Suhu 45°C | + |
| | Kadar garam 0% | + |
| | Kadar garam 3% | + |
| | Kadar garam 5% | + |
| | Kadar garam 6,5% | + |
| | Kadar garam 10% | - |
| Biokimiawi | Kebutuhan oksigen | Fakultatif anaerob |
| | Katalase | - |
| | Oksidase | + |
| | Indol | - |
| | MR | + |
| | VP | - |
| | Tipe Fermentasi | Homofermentatif |
| Genus Bakteri | | <i>Lactobacillus</i> |
| Keterangan: + = Interpretasi positif - = Interpretasi negatif | | |

Fase pertumbuhan bakteri digunakan sebagai acuan penentuan waktu optimum produksi bakteriosin. Gambar 2. menunjukkan bahwa selama 24 jam inkubasi isolat BAL LG-90 mengalami tiga fase pertumbuhan, yaitu fase lag, eksponensial, dan stasioner. Fase lag terjadi pada jam ke-0 hingga ke-2 inkubasi. Fase eksponensial terjadi pada jam ke-2 hingga ke-16 inkubasi. Menurut Prissilia *et al.* (2019), pada fase ini bakteri akan mengalami peningkatan jumlah sel yang berlangsung cepat. Fase stasioner terjadi pada jam ke-16 hingga ke-24. Fase ini ditandai dengan pertumbuhan konstan antara sel bakteri hidup dan yang mati. BAL akan menghasilkan metabolit sekunder yaitu bakteriosin pada fase ini sebagai pertahanan diri terhadap lingkungannya dan mikroorganisme lain.

Bakteriosin sebagai agen antimikroba sangat potensial digunakan untuk mengendalikan beberapa bakteri kontaminan, tetapi secara komersial ketersediannya masih sedikit dan harganya sangat mahal. Koleksi BAL di alam tersedia cukup banyak

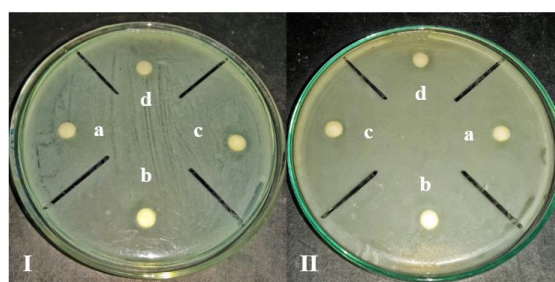
yang dapat dimanfaatkan untuk produksi bakteriosin. Waktu optimum produksi bakteriosin diperlukan agar produksi bakteriosin menjadi efektif dan mengurangi biaya produksi.


Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat BAL LG-90

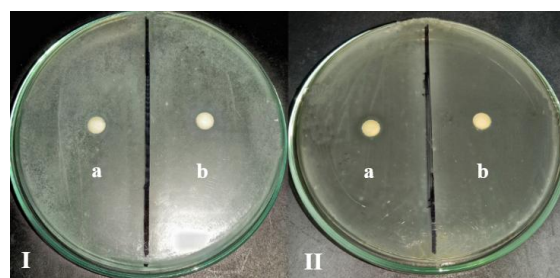
Tabel 2. Hasil uji aktivitas bakteriosin isolat BAL LG-90 berdasarkan waktu produksi yang berbeda

| Bakteri Patogen | Waktu Inkubasi (jam) | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|------------------|----------------------|---------------------------|------|-------------|
| | | I | II | x ± SD |
| <i>S. aureus</i> | 4 | 7,55 | 7,95 | 7,75 ± 0,28 |
| | 10 | 8,85 | 8,80 | 8,83 ± 0,03 |
| | 16 | 8,80 | 9,30 | 9,05 ± 0,35 |
| | 24 | 7,30 | 7,55 | 7,43 ± 0,18 |
| <i>E. coli</i> | 4 | 7,45 | 7,95 | 7,70 ± 0,35 |
| | 10 | 8,40 | 8,55 | 8,48 ± 0,11 |
| | 16 | 9,15 | 8,90 | 9,03 ± 0,18 |
| | 24 | 7,95 | 8,25 | 8,10 ± 0,21 |

Keterangan: x = Rata-rata
SD = Standar Deviasi



Gambar 3. Aktivitas bakteriosin berdasarkan waktu produksi yang berbeda terhadap bakteri patogen.
Keterangan: (I) *S. aureus*; (II) *E. coli*. (a, 4 jam; b, 10 jam; c, 16 jam; d, 24 jam).



Gambar 4. Uji pengaruh enzim proteolitik terhadap aktivitas bakteriosin pada bakteri patogen.
Keterangan: (I) *S. aureus*; (II) *E. coli*. (a, bakteriosin; b, bakteriosin dengan enzim papain).

Tabel 2. menunjukkan bahwa waktu optimum produksi bakteriosin terjadi pada inkubasi 16 jam, karena memiliki diameter zona hambat paling besar. Menurut Prissilia *et al.* (2019), bakteriosin dapat dideteksi pada fase eksponensial dan semakin optimum aktivitasnya pada fase stasioner. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* sebesar 9,05 ± 0,35 mm, sedangkan terhadap *E. coli* 9,03 ± 0,18 mm (Gambar 3). Besarnya aktivitas penghambatan bakteriosin pada tiap waktu produksi berkaitan dengan jumlah sel bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan meningkatnya nilai OD. Aktivitas terendah bakteriosin terjadi pada inkubasi 4 jam dengan nilai OD 0,532. Nilai OD pada inkubasi 10 jam sebesar 1,389 dan pada inkubasi 24 jam 1,508. Aktivitas

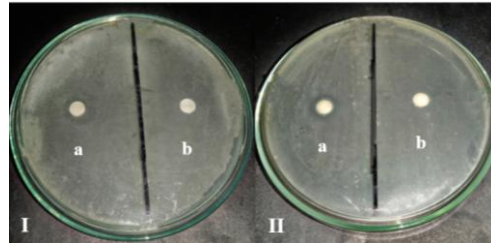
tertinggi bakteriosin terjadi pada inkubasi 16 jam yang memiliki nilai OD sebesar 1,551.

Hasil uji pengaruh enzim proteolitik terhadap bakteriosin menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona hambat (Gambar 4.). Menurut Ningsih *et al.* (2018), penambahan enzim proteolitik dapat menghilangkan aktivitas bakteriosin yang ditandai hilangnya zona hambat di sekitar cakram. Hasil penelitian membuktikan bahwa antimikroba yang dihasilkan BAL LG-90 adalah bakteriosin yang merupakan protein antimikroba yang mampu terdegradasi oleh enzim proteolitik. Enzim proteolitik yang digunakan yaitu enzim papain yang merupakan enzim hidrolase sistein protease yang dapat ditemukan pada pepaya.

Tabel 3. Hasil uji pengaruh enzim proteolitik terhadap aktivitas bakteriosin isolat BAL LG-90

| | Bakteri Patogen | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|---------------------------------|------------------|---------------------------|------|-------------|
| | | I | II | x ± SD |
| Bakteriosin | <i>S. aureus</i> | 10,05 | 9,55 | 9,80 ± 0,35 |
| | <i>E. coli</i> | 8,50 | 8,95 | 8,73 ± 0,32 |
| Bakteriosin + Enzim Proteolitik | <i>S. aureus</i> | 6,00 | 6,00 | 6,00 ± 0,00 |
| | <i>E. coli</i> | 6,00 | 6,00 | 6,00 ± 0,00 |

Keterangan: x = Rata-rata
SD = Standar Deviasi



Gambar 5. Aktivitas bakteriosin terhadap bakteri patogen.
Keterangan: (I) *S. aureus*; (II) *E. coli*. (a, bakteriosin; b, kontrol negatif).

Tabel 3. menunjukkan bahwa bakteriosin BAL LG-90 lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* dibandingkan bakteri Gram negatif *E. coli*. Hal ini dibuktikan dengan diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* (Gambar 5.). Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri patogen *S. aureus* adalah sebesar $9,80 \pm 0,35$ mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar $8,73 \pm 0,32$ mm. Perbedaan sensitivitas tersebut dikarenakan bakteri Gram negatif memiliki membran luar yang bertindak sebagai barrier sehingga lebih sulit ditembus bakteriosin. Bakteri Gram positif hanya memiliki membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan dan asam lipoteikoat. Asam lipoteikoat merupakan reseptor spesifik dan terkait dengan pengikatan senyawa bakteriosin (Pelczar *et al.*, 2005).

Berdasarkan Tabel 4., bakteriosin BAL LG-90 memiliki aktivitas pada pH 3 hingga pH 7 dan optimum pada pH 6. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan bakteriosin pH 6 terhadap bakteri patogen *S. aureus* adalah sebesar $10,70 \pm 0,14$ mm, sedangkan terhadap

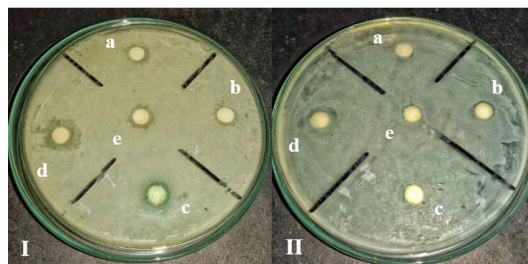
E. coli sebesar $10,03 \pm 0,11$ mm (Gambar 6.). Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Duraisamy *et al.* (2015), bahwa kestabilan aktivitas bakteriosin terjadi pada rentang pH 3 sampai pH 7 dan memiliki aktivitas optimum pada pH 6. Menurut Sari *et al.* (2018), stabilitas bakteriosin pada skala pH yang berbeda merupakan faktor pembatas untuk direkomendasikan dalam pengaplikasiannya sebagai pengawet pada bahan makanan.

Tabel 5. menunjukkan bahwa bakteriosin BAL LG-90 tahan terhadap pemanasan sampai suhu 100°C. Bakteriosin yang dipanaskan pada suhu 40°C masih memiliki sifat antimikroba yang tinggi, tetapi aktivitas bakteriosin menurun seiring perlakuan suhu yang semakin tinggi. Diameter zona hambat terbesar terdapat pada bakteriosin suhu pemanasan 40°C, dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* adalah sebesar $11,68 \pm 0,03$ mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar $9,45 \pm 0,28$ mm (Gambar 7.). Hasil tersebut sesuai penelitian Ningsih *et al.* (2018) dan Duraisamy *et al.* (2015), bahwa bakteriosin memiliki sifat tahan terhadap panas pada suhu 40°C hingga 100°C dan optimum pada suhu 40°C.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas bakteriosin isolat BAL LG-90 berdasarkan nilai pH yang berbeda

| Bakteri Patogen | Nilai pH | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|------------------|----------|---------------------------|-------|--------------|
| | | I | II | x ± SD |
| <i>S. aureus</i> | 3 | 8,05 | 8,20 | 8,13 ± 0,11 |
| | 4 | 8,10 | 8,30 | 8,20 ± 0,14 |
| | 5 | 9,75 | 9,45 | 9,60 ± 0,21 |
| | 6 | 10,80 | 10,60 | 10,70 ± 0,14 |
| | 7 | 9,75 | 9,60 | 9,68 ± 0,11 |
| <i>E. coli</i> | 3 | 7,95 | 7,45 | 7,70 ± 0,35 |
| | 4 | 7,75 | 8,05 | 7,90 ± 0,21 |
| | 5 | 8,55 | 8,75 | 8,65 ± 0,14 |
| | 6 | 10,10 | 9,95 | 10,03 ± 0,11 |
| | 7 | 8,85 | 8,40 | 8,63 ± 0,32 |

Keterangan: x = Rata-rata
SD = Standar Deviasi

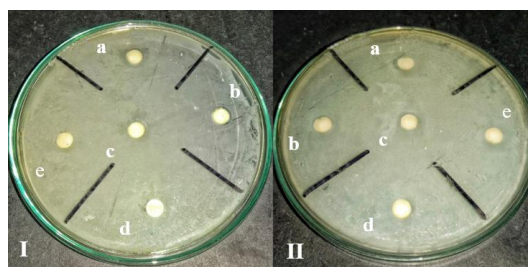


Gambar 6. Aktivitas bakteriosin berdasarkan nilai pH yang berbeda terhadap bakteri patogen.
Keterangan: (I) *S. aureus*; (II) *E. coli* (a, pH 3; b, pH 4; c, pH 5; d, pH 6; e, pH 7).

Tabel 5. Hasil uji aktivitas bakteriosin isolat BAL LG-90 berdasarkan suhu pemanasan yang berbeda

| Bakteri Patogen | Suhu Pemanasan (°C) | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|------------------|---------------------|---------------------------|-------|--------------|
| | | I | II | x ± SD |
| <i>S. aureus</i> | 40 | 11,70 | 11,65 | 11,68 ± 0,03 |
| | 60 | 8,95 | 8,70 | 8,83 ± 0,18 |
| | 80 | 7,55 | 7,85 | 7,70 ± 0,21 |
| | 100 | 6,35 | 6,20 | 6,28 ± 0,11 |
| | 121 | 6,00 | 6,00 | 6,00 ± 0,00 |
| <i>E. coli</i> | 40 | 9,25 | 9,65 | 9,45 ± 0,28 |
| | 60 | 8,05 | 7,95 | 8,00 ± 0,07 |
| | 80 | 7,75 | 7,50 | 7,63 ± 0,18 |
| | 100 | 6,30 | 6,20 | 6,25 ± 0,07 |
| | 121 | 6,00 | 6,00 | 6,00 ± 0,00 |

Keterangan: x = Rata-rata
SD = Standar Deviasi



Gambar 7. Aktivitas bakteriosin berdasarkan suhu pemanasan yang berbeda terhadap bakteri patogen.
Keterangan: (I) *S. aureus*; (II) *E. coli* (a, 40°C; b, 60°C; c, 80°C; d, 100°C; e, 121°C).

Masih adanya aktivitas bakteriosin ketika diberi perlakuan panas dikarenakan bakteriosin merupakan peptida pendek yang stabil terhadap panas. Asam amino tertentu yang ada pada bakteriosin mampu mempertahankan struktur bakteriosin dari pengaruh panas. Stabilitas bakteriosin terhadap suhu pemanasan penting apabila bakteriosin akan diaplikasikan sebagai pengawet makanan (Andarilla *et al.*, 2018).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat BAL LG-90 asal sedimen mangrove Pantai Logending memiliki karakter fenetik yang serupa dengan genus *Lactobacillus*. Waktu optimum produksi bakteriosin BAL LG-90 yaitu pada inkubasi 16 jam. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* adalah sebesar 9,05 ± 0,35 mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar

9,03 ± 0,18 mm. Bakteriosin isolat BAL LG-90 memiliki aktivitas optimum sebagai antimikroba pada pH 6. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* adalah sebesar 10,70 ± 0,14 mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar 10,03 ± 0,11 mm. Bakteriosin isolat BAL LG-90 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi sebagai antimikroba pada suhu pemanasan 40°C. Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* adalah sebesar 11,68 ± 0,03 mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar 9,45 ± 0,28 mm

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada projek penelitian dosen dengan sumber dana BLU Unsoed tahun 2020 dengan skema penelitian Riset Peningkatan Kompetensi.

DAFTAR REFERENSI

- Andarilla, W., Sari, R. & Apridamayanti, P., 2018. Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dari Sotong Kering. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(2), pp. 187-196.
- Duraisamy, S., Gurusamy, R. & Senthil Kumar, B., 2013. Antagonistic Effect of Brevicin on Gram Positive and Gram Negative Food Borne Bacteria and Its Biopreservative Efficacy in Milk. *African Journal of Biotechnology*, 12(2), pp. 175-185.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A. & Delvia, F., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), pp. 159-163.
- Kasi, P.D., Ariandi & Mutmainnah, H., 2017. Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biotropika*, 5(3), pp. 97-101.
- Kursia, S., Imrawati, Ismail, Halim, A., Ramadhani, N., Ramadhani, F., Priska, F. & Hanifah, F., 2020. Identifikasi Biokimia dan Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Limbah Sayur Bayam. *Jurnal Media Farmasi*, 16(1), pp. 27-32.
- Kusharyati, D.F., Satwika, T.D. & Mariana, A., 2020. Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending Sebagai Agen Biopreservasi Produk Makanan Laut Secara In Vitro. Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman.
- Kusmarwati, A., Arief, F.R. & Haryati, S., 2014. Eksplorasi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Rusip Bangka dan Kalimantan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 9(1), pp. 29-40.
- Laily, I.N., Utami, R. & Widowati, E., 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(4), pp. 179-184.
- Ningsih, N.P., Sari, R. & Apridamayanti, P., 2018. Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* dari Es Pisang Ijo. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(2), pp. 233-242.
- Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S., 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Prissilia, N., Sari, R. & Apridamayanti, P., 2019. Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), pp. 1-22.
- Riadi, S., Setiyawati, D. & Situmeang, S., 2020. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchii dan Teh Kombucha dalam Menghambat Bakteri Patogen. *Jurnal Kesmas Prima Indonesia*, 2(1), pp. 25-29.
- Sari, R., Apridamayanti, P. & Octaviani, M., 2018. Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh Bakteri *Lactobacillus plantarum* dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(1), pp. 1-6.
- Sidabutar, A.R., Feliatra. & Andi, D., 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteriosin dari Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricus). *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 2(2), pp. 1-13.
- Surono, I.S., 2016. *Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional*. Yogyakarta: Deepublish.
- Tari, K., Iswahyudi. & Siregar, D.S., 2020. Kesesuaian Kawasan untuk Pengembangan Ekowisata Hutan Mangrove Kuala Langsa. *Jurnal Belantara*, 3(2), pp. 173-185.
- Vos, P.D., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. & Whitman, W.B. (Eds.). 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume Three: The Firmicutes. New York: Springer.