

## Isolasi, Karakterisasi dan Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Ampas Susu Kedelai (Okara)

*Isolation, Characterization, and Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria from Soybean Milk Residue (Okara)*

Witri Winanda<sup>1\*</sup>, Sharfina Maulidayanti<sup>2</sup>, Syifa Intan Nadila<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program studi Biologi, Fakultas Kesehatan dan Sains, Universitas Internasional Batam, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Prima Indonesia, Jakarta

\*corresponding author, Email: witri.winanda@uib.ac.id

### Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 04/11/2025

Disetujui : 23/12/2025

### Abstract

Soy milk is a processed product derived from the extraction of soybeans, rich in plant-based proteins, amino acids and other bioactive compound. The process of making soy milk produces soybean residue, which is generally not optimally utilized. The nutrients in soybean residue can promote the growth of lactic acid bacteria. The function of lactic acid bacteria is to produce antimicrobial compounds that can inhibit the growth of pathogenic bacteria. This study aims to test the potential of lactic acid bacteria isolated from soy milk residue against *Acinetobacter baumannii* and *Enterococcus faecalis*. This research uses an experimental study design. The population used in this study is solid waste from the soy milk production process. The isolation of lactic acid bacteria (LAB) was carried out using the spread plate method with MRSA media enriched with 1% calcium carbonate. The characterization of LAB was determined through macroscopic, microscopic, and biochemical tests, while the antimicrobial activity test used the well diffusion method with Mueller Hinton Agar (MHA) media. The results showed that one isolate could be isolated and exhibited characteristics of lactic acid bacteria, specifically coccobacillus, Gram-positive, and catalase-negative. Isolate AK is resistant to pH 2.5 and can grow in a 3% bile salt concentration. However, antimicrobial activity testing revealed that crude extracts of the Lab isolate were ineffective in inhibiting the growth of the pathogenic bacteria *A. baumannii* and *E. faecalis*. This study successfully obtained lactic acid bacteria (LAB) isolates and examined their characteristics; however, the crude extracts of the isolates did not exhibit antimicrobial activity against the tested bacteria. Therefore, future studies are recommended to optimize fermentation conditions, apply appropriate extraction solvents, and perform molecular gene identification.

**Keywords:** Soy milk residue, Antimicrobial, *E. faecalis*, *A. baumannii*

### Abstrak

Susu kedelai merupakan produk minuman hasil ekstraksi biji kedelai yang kaya protein nabati, asam amino serta komponen bioaktif lainnya. Proses dari pembuatan susu kedelai menghasilkan ampas kedelai (okara) yang umumnya belum dimanfaatkan secara optimal. Ampas kedelai mengandung nutrisi yang berpotensi untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat. Peran utama bakteri asam laktat adalah memproduksi senyawa antimikroba yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi bakteri asam laktat yang dihasilkan dari isolasi ampas susu kedelai terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Acinetobacter baumannii*. Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah padat dari proses pembuatan susu kedelai. Teknik isolasi BAL dilakukan dengan metode *spread plate* menggunakan media *MRSA* yang diperkaya *kalsium karbonat 1%*. Karakterisasi BAL ditentukan melalui uji makroskopik, mikroskopik dan biokimia, sedangkan untuk uji aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi sumur menggunakan media *Mueller Hinton Agar (MHA)*. Penelitian ini berhasil mengisolasi satu isolat yang sesuai dengan karakteristik bakteri asam laktat, yakni *coccobacil*, Gram positif, katalase negatif. Isolat tersebut yaitu AK yang tahan pada kondisi asam (pH 2,5) serta dapat tumbuh pada medium dengan kadar garam empedu 3%. Hasil uji aktivitas antimikroba dari ekstrak kasar isolat BAL tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. baumannii* dan *E. faecalis*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan kondisi fermentasi, melakukan ekstraksi dengan pelarut yang sesuai serta dilakukan identifikasi gen molekuler.

**Kata Kunci:** Ampas susu kedelai, Antimikroba, *E. faecalis*, *A. baumannii*

## PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman legum yang memiliki nilai gizi tinggi karena kaya akan protein nabati, lemak, vitamin, dan mineral esensial yang berperan penting bagi kesehatan tubuh. Susu kedelai termasuk produk olahan yang dihasilkan melalui ekstraksi dari kedelai. Kandungan protein dalam susu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir identik dengan susu sapi, sehingga seringkali dijadikan alternatif bagi mereka yang alergi terhadap protein hewani (Zhao *et al.*, 2022). Proses produksi susu kedelai menyisakan residu ampas kedelai sering disebut okara yang sering dianggap limbah, akan tetapi kaya akan protein, serat, lemak, isoflavon serta mikronutrien lainnya (Li *et al.*, 2020; Asghar *et. al.*, 2023).

Okara diketahui mengandung serat pangan 49,05%, protein sekitar 33,4% yang didominansi oleh asam amino esensial serta lemak 19,8% dengan komposisi berupa asam lemak tak jenuh ganda. Selain itu okara juga mengandung sejumlah kecil komponen gizi lain termasuk pati, gula, kalium, dan vitamin B yang mendukung pencernaan. Dengan profil tersebut menjadikan okara sebagai alternatif sumber protein nabati yang lebih ekonomis (Préstamo *et al.*, 2007). Okara juga memiliki potensi sebagai substrat fermentasi karena kaya nutrisi dan serat yang mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). Selama proses fermentasi pangan, bakteri asam laktat (BAL) umumnya didominasi oleh empat genus utama, yaitu, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus* (Wood, 2014). Mikroorganisme tersebut tidak hanya ditemukan pada produk olahan susu namun juga secara alami dapat ditemui pada buah-buahan, sayur dan produk fermentasi lainnya (Di Cagno *et al.*, 2013). BAL diketahui memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif dengan aktivitas antimikroba seperti bakteriosin yang berperan penting dalam pengendalian pertumbuhan mikroba patogen (Galvez *et. al.*, 2007).

Bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Acinetobacter baumannii* merupakan patogen oportunistik yang berperan penting dalam terjadinya infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang muncul selama atau setelah pasien menjalani perawatan di fasilitas kesehatan seperti rumah sakit (Ch'ng *et al.*, 2020). Infeksi nosokomial umumnya terjadi akibat penularan silang antara pasien, tenaga medis, atau melalui penggunaan alat medis yang tidak steril (Mahendra, 2021). Prevalensi infeksi nosokomial pada pasien di negara maju bervariasi antara 3,5% - 12%, sementara itu di negara berkembang prevalensi infeksi nosokomial 9,1% dengan variasi 6,1-16%. Di Indonesia, angka kejadian infeksi nosokomial dilaporkan mencapai 15,74%, sehingga pentingnya penerapan kebijakan pencegahan dan pengendalian infeksi secara ketat untuk menurunkan risiko penularan di fasilitas pelayanan kesehatan (Kementerian Kesehatan RI, 2021).

Peningkatan kasus infeksi nosokomial di rumah sakit seringkali diikuti dengan tingginya angka resistensi bakteri terhadap beberapa jenis antibiotik. Resistensi antibiotik ini berdampak pada kegagalan terapi serta peningkatan angka mortalitas pasien (WHO, 2023). Resistensi antibiotik merupakan keadaan dimana bakteri dapat "kebal" terhadap paparan antibiotik. Keadaan ini disebabkan oleh penggunaannya secara luas dan kurang tepat. Bakteri *Enterococcus (VRE)* yang resisten terhadap *vankomisin*, dan *Acinetobacter* yang resisten terhadap *karbapenem*, *aminoglikosida*, *quinolon*, *polymyxin* dan *tetracycline* (Sikora dan Zahra, 2023). Dalam konteks ini, pemanfaatan limbah kedelai yang mengandung bakteri asam laktat (BAL) mulai dikembangkan sebagai alternatif sumber senyawa antimikroba alami dengan potensi penghambatan terhadap bakteri patogen.

Limbah kedelai (okara) berhasil dieksplorasi dalam beberapa penelitian, diantaranya Amaliah *et al.*, (2018) berhasil mengisolasi BAL dari limbah cair rendaman kacang kedelai. Penelitian Santosa dan Retnaningrum (2020) memperoleh isolat BAL dari limbah produksi tempe. Hasil penelitian yang telah dilakukan diatas menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dapat tumbuh dari limbah kedelai dan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Beberapa jenis bakteri asam laktat yang sering ditemukan, antara lain *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus pentosus*. Berdasarkan uraian di tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi bakteri asam laktat (BAL) dari ampas kedelai (okara) dan mempelajari aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen.

## MATERI DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental yaitu dengan isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba BAL ampas susu kedelai dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Enterococcus faecalis* dan *Acinetobacter baumannii*. Sampel diambil di salah satu produsen susu kedelai yang berlokasi di Pondok Ungu Permai, Bekasi, sedangkan untuk penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Prima Indonesia. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April - Juni 2024. Beberapa media yang digunakan untuk penelitian ini adalah : media *MRSA* (*Man Rogosa and Sharpe Agar*), media *MRSB* (*Man Rogosa and Sharpe Broth*), media *MHA* (*Mueller Hilton Agar*), media gula - gula, akuades steril, NaCl fisiologis steril, hidrogen klorida, natrium hidroksida, hidrogen peroksida 3%, kalsium karbonat 1%, *methyl red*. Sampel yang dipakai untuk mengisolasi BAL yaitu ampas susu kedelai, Bakteri indikator untuk uji aktivitas antimikroba yaitu *Acinetobacter baumannii* dan *Enterococcus faecalis*.

## Prosedur Kerja

### a. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan menggunakan metode *spread plate*. Medium *MRSA* sebanyak 6,82 g ditimbang dan ditambahkan kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) 1 %. Kemudian dilarutkan dengan akuades hingga volume akhir 100 mL. Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis steril dan dihomogenkan. Pengenceran berseri dilakukan hingga tingkat  $10^{-7}$ . Dari seri  $10^{-5}, 10^{-6}$  dan  $10^{-7}$  masing-masing sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam cawan petri lalu diratakan menggunakan *stik hockey*. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam (Nisa *et al.*, 2020). Koloni yang tumbuh dihitung menggunakan metode *total plate count (TPC)*. Koloni tunggal yang memiliki ciri morfologi berbentuk bulat, permukaan licin, bewarna putih kekuningan serta membentuk zona bening di sekitar koloni diduga sebagai bakteri asam laktat. Isolat terpilih selanjutnya dipurifikasi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Fahmi *et al.*, 2022).

### b. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

#### a) Uji Pewarnaan Gram

Sediaan difiksasi dengan api bunsen, lalu diberikan pewarnaan bertahap menggunakan karbol gentian violet (60 detik), larutan iodium (30 detik), alkohol 95%, dan safranin (10 detik) dengan waktu sesuai prosedur diselingi pencucian dengan akuades. Setelah dikeringkan, hasil pewarnaan Gram diamati di bawah mikroskop perbesaran 100 hingga 400 kali (Fallo *et al.*, 2021).

#### b) Morfologi Koloni

Pengamatan morfologi pada koloni BAL yang sudah diinkubasi selama 48 jam dengan mengamati bentuk koloni, warna, tepian dan elevasi koloni bakteri (Ismail *et al.*, 2017).

#### c) Uji Katalase

Aktivitas enzim katalase diuji dengan diteteskan larutan hidrogen peroksida 3% (1–3 tetes) pada suspensi bakteri di atas *object glass*. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung, sedangkan tidak adanya gelembung menunjukkan hasil negatif (Amaliah *et al.*, 2018).

#### d) Uji Gula-Gula

Uji fermentasi glukosa dilakukan dengan menumbuhkan 1 mL bakteri asam laktat dalam medium 5 mL MRSB (5,22 g dalam 100 mL akuades) yang sebelumnya sudah diisi tabung Durham kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Munculnya gas dalam tabung Durham menunjukkan bakteri telat berhasil memfermentasi glukosa menjadi asam dan karbon dioksida (Amaliah *et al.*, 2018).

#### e) Uji Ketahanan pH

Uji fermentasi glukosa pada bakteri asam laktat dilakukan di dalam medium MRSB berisi tabung Durham yang diinkubasi 37°C selama 48 jam, dan

hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas sebagai produk samping selain asam (Rahmah *et al.*, 2021)

#### f) Uji Ketahanan Garam

Sebanyak 0,1 ml suspensi BAL ditumbuhkan di dalam 2 mL medium MRSB dengan NaCl 3% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya 1 mL suspensi tersebut diinokulasikan ke media MRS agar dengan metode cawan tuang dan diinkubasi kembali pada 37°C selama 24 jam (Priadi *et al.*, 2020).

### c. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menyiapkan suspensi bakteri *E. faecalis* dan *A. baumannii* yang disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5. Suspensi isolat BAL diinokulasikan secara merata pada permukaan medium MHA (19 g dalam 500 mL akuades), kemudian didiamkan selama 5–15 menit. Sumuran dibuat pada medium MHA dan diisikan 20  $\mu\text{l}$  suspensi bakteri BAL hasil inkubasi 24 jam. Kultur isolat BAL diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong sesuai pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (Rasyid *et al.*, 2021).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Ampas Susu Kedelai

Isolat BAL dari limbah padat kedelai berhasil diisolasi yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (gambar 1). Zona bening ini menunjukkan adanya produksi asam laktat berlebih oleh isolat, karena kalsium karbonat terlarut akibat akumulasi asam (Aritonang *et al.*, 2019; Peni *et al.*, 2019). Koloni yang tumbuh kemudian dihitung menggunakan metode total plate count (TPC), dan diperoleh jumlah  $8,64 \times 10^8$  cfu/mL.

### B. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Karakterisasi bakteri dilakukan untuk mempelajari dan menganalisis berbagai sifat morfologis, fisiologis, dan biokimia sehingga jenis bakteri dapat dikenali dengan lebih valid. Bakteri Asam Laktat (BAL) pada umumnya tergolong bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, memiliki bentuk sel *coccus* (bulat) atau *bacillus* (batang), bersifat katalase negatif, serta mampu memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama (Kurnia *et al.*, 2020). Pada tabel 1 hasil isolasi diperoleh satu isolat bakteri asam laktat dengan kode AK.

Tabel 1. Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat

Kode Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	Tepian	Warna	Elevasi
AK	Bulat	Rata	Putih	Cembung



**Gambar 1.** Isolat bakteri Asam Laktat (BAL); morfologi koloni isolat (kiri), hasil pewarnaan isolate BAL (kanan)  
Keterangan: terdapat zona bening di sekitar koloni bakteri



**Gambar 2.** Hasil uji beberapa gula dari kiri ke kanan (glukosa,sukrosa, fruktosa dan laktosa) isolat dapat memfermentasikan gula menjadi asam, tetapi tidak dapat memproduksi gas (homofermentatif)

Pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa morfologi koloni isolat bakteri berbentuk bulat, berwarna putih, memiliki tepian rata, serta elevasi cembung. Karakteristik ini penting karena sesuai dengan ciri umum koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), sebagaimana juga dilaporkan oleh Kurnia *et al.* (2020), sehingga dapat memperkuat identifikasi awal bahwa isolat yang diperoleh merupakan BAL.

Hasil pewarnaan Gram pada isolat AK menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk Gram positif dengan bentuk sel kokobasil, yaitu peralihan antara basil (batang) dan kokus (bulat). Temuan ini konsisten dengan laporan Dwijastuti (2023), yang juga mengidentifikasi isolat sejenis dengan karakteristik morfologi serupa. Sedangkan hasil pengujian katalase yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat yang diuji merupakan katalase negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Aritonang *et al.*, 2019). Reaksi katalase akan positif jika terdapat gelembung ketika ditetesi dengan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), begitupun sebaliknya. Terbentuknya gelembung-gelembung gas menandakan bahwa terbentuk gas  $O_2$  dari penguraian  $H_2O_2$  oleh enzim katalase dari bakteri tersebut (Amaliah *et al.*, 2018).

Uji gula-gula yang dilakukan pada penelitian ini adalah glukosa, sukrosa, fruktosa dan laktosa. Hasil dari uji gula menunjukkan bahwa isolat dapat memfermentasikan gula dan dikelompokkan dalam tipe *homofermentatif*, karena ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna kuning dan tidak adanya gelembung gas dalam tabung durham. Hal ini

sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Aritonang *et al.*, 2019) yang memperoleh hasil homofermentatif pada uji gula-gula yang dilakukan. BAL dikelompokkan dalam 2 tipe fermentasi, yakni: 1) kelompok homofermentatif, yakni kelompok bakteri asam laktat yang hanya mampu memproduksi satu jenis komponen saja yaitu dengan mengubah glukosa menjadi produk utamanya, 2) kelompok heterofermentatif, yakni kelompok bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat dalam jumlah kecil, tetapi mampu memproduksi bermacam-macam senyawa lain, misalnya asam asetat, etanol, dan asam format (Amaliah *et al.*, 2018).

Pada uji ketahanan pH, isolat bakteri asam laktat yang diuji menunjukkan sifat tahan terhadap pH rendah. Kemampuan isolat bakteri asam laktat terhadap pH 2,5 ditandai dengan adanya kekeruhan dan endapan setelah masa inkubasi pada medium MRSB. Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada pH yang rendah dikarenakan bakteri ini menghasilkan enzim protease, yaitu aminopeptidase yang mampu mempengaruhi adaptasi dan pertumbuhan bakteri asam laktat pada kondisi asam. Enzim protease dibutuhkan oleh bakteri asam laktat untuk pertumbuhan dan menghasilkan asam seperti dalam proses fermentasi. Hasil uji ketahanan bakteri asam laktat terhadap kondisi garam menunjukkan mampu bertahan pada kondisi garam 3% ditandai dengan adanya kekeruhan dan endapan pada media MRSB, kemudian ditanam pada media MRSA terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media (Rahmah *et al.*, 2021).

### C. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat

#### Aktivitas antimikroba terhadap *Acinetobacter baumannii*

Hasil penelitian aktivitas antimikroba dilakukan dengan uji zona hambat. Uji daya hambat dari ekstrak kasar isolat BAL ditunjukkan dengan munculnya zona hambat di sekeliling sumuran. Semakin besar zona hambat maka semakin besar pula aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji yang digunakan. Hasil pengujian uji daya hambat isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii* ditunjukkan pada tabel 2. Hasil pengujian yang disajikan pada tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kasar isolat bakteri asam laktat tidak menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan *Acinetobacter baumannii* pada seluruh ulangan. Kontrol negatif juga tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan, sedangkan kontrol positif memperlihatkan daya hambat yang kuat dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar 27 mm. Hal ini mengonfirmasi bahwa prosedur pengujian telah berjalan dengan baik, namun ekstrak kasar isolat bakteri asam laktat yang diuji belum menunjukkan efektivitas sebagai agen antimikroba terhadap bakteri uji.

**Tabel 2.** Zona Hambat Ekstrak Kasar Isolat Bakteri Asam Laktat (mm) terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii*

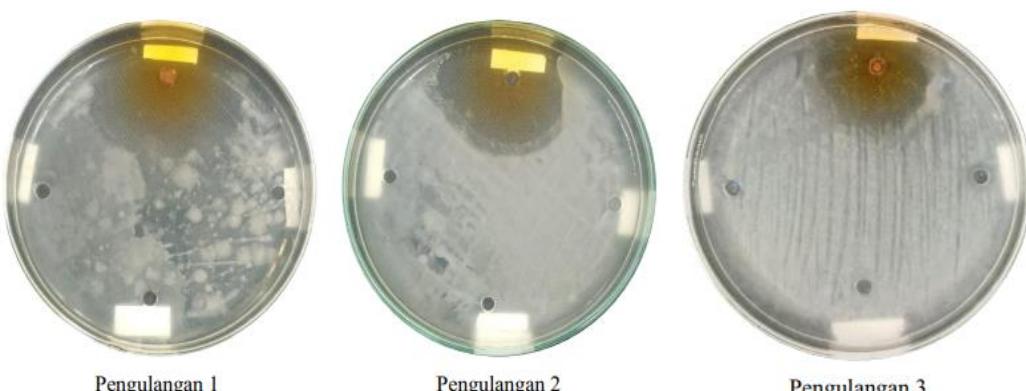
Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Kategori (mm)
	P1	P2	P3	
AK	0	0	0	0 Lemah
K (-)	0	0	0	0 Lemah
K (+)	30	28	23	27 Kuat

Uji aktivitas antimikroba yang menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari limbah padat kedelai tidak menunjukkan kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan *Acinetobacter baumannii*, yang

ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar sumur uji. Pada gambar 3 kontrol positif menunjukkan zona hambatnya yang cukup kuat namun tidak dengan sampel isolat AK. Kategori daya hambat bakteri menurut (CLSI, 2021) berdasarkan zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran, yaitu zona hambat  $\leq 16$  mm kategori lemah, zona hambat 17-19 mm kategori sedang, dan zona hambat  $\geq 20$  mm termasuk kategori kuat. Fenomena ini kemungkinan disebabkan oleh rendahnya konsentrasi atau aktivitas senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL, seperti bakteriosin, asam organik, maupun hidrogen peroksida (Cotter *et al.*, 2013).

Di sisi lain, *A. baumannii* diketahui memiliki berbagai mekanisme resistensi, termasuk pembentukan biofilm, sistem *efflux pump*, serta enzim inaktivator, yang secara efektif melindungi sel dari paparan agen antimikroba (Lee *et al.*, 2017; Ayoub Moubareck & Hammoudi Halat, 2020). Faktor lingkungan seperti pH, suhu inkubasi, dan kepadatan sel selama proses pengujian juga dapat memengaruhi kestabilan serta efektivitas metabolit antimikroba yang dihasilkan oleh BAL serta sensitivitas mikroba uji dan kestabilan senyawa antimikroba dalam medium. Bakteriosin yang dihasilkan BAL memiliki mekanisme kerja spesifik dengan membentuk pori pada membran sel target, sehingga peningkatan dosis ekstrak akan meningkatkan interaksi antara bakteriosin dan membran bakteri, memperluas kerusakan sel dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar (Yang *et al.*, 2018).

Penelitian uji daya hambat ekstrak kasar isolat BAL dari limbah padat kedelai terhadap *Acinetobacter baumannii* dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang lebih valid dan akurat. Ekstrak kasar isolat BAL yang digunakan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Pada penelitian ini kontrol negatif menggunakan akuades dan tidak menimbulkan



**Gambar 3.** Uji aktivitas antimikroba terhadap *Acinetobacter baumannii*



**Gambar 4.** Aktivitas antimikroba terhadap *Enterococcus faecalis*

daya hambat terhadap bakteri *Acinetobacter baumannii*. Sementara itu, kontrol positif menggunakan antibiotik rifampicin yang tergolongan obat antimikroba. Faktor yang juga mempengaruhi hasil uji zona hambat adalah konsentrasi ekstrak yang digunakan. Menurut (Savadogo *et al.*, 2006; Aween *et al.*, 2012) konsentrasi ekstrak bakteri asam laktat (BAL) berperan penting dalam menentukan luas dan kejelasan zona hambat terhadap bakteri uji. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak BAL, umumnya semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk, karena meningkatnya jumlah senyawa bioaktif seperti bakteriosin, asam organik (terutama asam laktat dan asetat), serta hidrogen peroksida yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan mikroba patogen. Pada konsentrasi rendah, aktivitas antimikroba dapat menurun akibat jumlah senyawa aktif yang tidak cukup untuk menembus dinding sel atau menghambat sintesis protein bakteri target (García-Cano *et al.*, 2019).

#### Aktivitas antimikroba terhadap *Enterococcus faecalis*

Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap *Enterococcus faecalis* (tabel 3) menunjukkan bahwa ekstrak kasar isolat bakteri asam laktat tidak menghasilkan zona hambat pada seluruh ulangan, sehingga dikategorikan memiliki aktivitas antimikroba yang lemah. Tidak adanya zona hambat juga teramat pada kontrol negatif, yang menandakan bahwa akuades yang digunakan tidak memengaruhi pertumbuhan bakteri uji. Sebaliknya, kontrol positif mampu menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 19,83 mm, yang mengindikasikan sensitivitas bakteri uji terhadap agen antimikroba pembanding. Hasil ini menguatkan bahwa senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dalam bentuk ekstrak kasar belum efektif terhadap *E. faecalis*.

**Tabel 3.** Zona hambat isolat ekstrak kasar isolat bakteri asam laktat (mm) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Kategori (mm)	
	P1	P2	P3		
AK	0	0	0	0	Lemah
K (-)	0	0	0	0	Lemah
K (+)	20,5	18	21	19,83	Kuat

Fenomena tidak adanya zona hambat ini terlihat pada gambar 4 dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang saling berkaitan. Kemungkinan pertama berkaitan dengan rendahnya konsentrasi senyawa aktif yang diproduksi oleh BAL, seperti bakteriosin, asam laktat, maupun hidrogen peroksida. Jumlah metabolit bioaktif yang tidak mampu menurunkan kemampuan difusi dan daya hambat antibakteri pada medium agar (Savadogo *et al.*, 2006; Aween *et al.*, 2012). Selain itu, faktor teknis juga perlu diperhatikan seperti ketebalan medium agar, kepadatan inokulum, suhu, dan lama inkubasi. Medium yang terlalu tebal dapat menghambat difusi senyawa aktif, sedangkan inokulum yang terlalu padat mengurangi peluang terbentuknya zona hambat akibat tingginya populasi bakteri target (Balouiri *et al.*, 2016). Oleh karena itu, optimasi kondisi uji, termasuk variasi konsentrasi ekstrak BAL, pengaturan pH, serta lama fermentasi, diperlukan untuk meningkatkan aktivitas antimikroba yang terukur. Untuk penelitian lanjutan disarankan untuk mengoptimalkan konsentrasi ekstrak BAL serta menguji efektivitasnya terhadap bakteri dengan tingkat resistensi yang lebih rendah guna memperoleh hasil yang lebih representatif.

## SIMPULAN

Ampas kedelai (okara) menunjukkan potensi sebagai sumber bakteri asam laktat (BAL), terbukti dari hasil isolasi diperoleh satu isolat BAL. Hasil isolasi menunjukkan karakter khas BAL seperti sifat kokobasil, Gram positif, tahan terhadap kondisi asam dan uji katahanan garam. Karakter morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih, bertepi rata, dan memiliki elevasi cembung serta membentuk zona bening pada medium MRSA. Uji biokimia menunjukkan hasil katalase negatif, sedangkan pada uji fermentasi dikonfirmasi isolat termasuk tipe homofermentatif. Namun, ekstrak kasar isolat BAL tidak menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *Acinetobacter baumannii* maupun *Enterococcus faecalis*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan kondisi fermentasi, metode ekstraksi serta melakukan identifikasi molekuler guna mendukung karakterisasi isolat BAL secara lebih mendalam.

## DAFTAR REFERENSI

- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. 2018. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1),pp.253–257.
- Aritonang, M., Saragih, B., & Lumbanraja, J. 2019. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari hasil fermentasi kedelai. *Jurnal Biologi Lingkungan dan Pendidikan Bioteknologi*, 4(2),pp.67–73.
- Asghar, S., Shabbir, M. A., Ahmad, A. 2023. Nutritional and functional significance of soybean okara in food products: A review. *Food Research International*, 169,pp.112–843.
- Aween, M. M., Hassan, Z., Muhialdin, B. J., Eljamel, Y. A., Al-Mabrok, A. S. W., & Lani, M. N. 2012. Antibacterial activity of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Malaysian fermented foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(4),pp.4367–4387.
- Ayoub Moubareck, C., & Hammoudi Halat, D. 2020. Insights into *Acinetobacter baumannii* resistance: Mechanisms and epidemiology. *Infection and Drug Resistance*, 13,pp.117–132.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2),pp.71–79.
- Ch'ng, J.-H., Chong, K. K. L., Lam, L. N., Wong, J. J., & Kline, K. A. 2020. Biofilm-associated infection by *Enterococcus faecalis* and its control using bacteriophage therapy. *Frontiers in Microbiology*, 11,pp.823.
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. 2013. Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2),pp.95–105.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. 2013. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food microbiology*, 33(1),pp.1–10.
- Dwijastuti, n. M. S. 2023. Eksplorasi bakteri asam laktat dengan aktivitas antibakteri dari urutan sebagai kandidat probiotik exploration of lactic acid bacteria with antibacterial activity from urutan as probiotic candidates. *Jurnal Analis Kesehatan*, 12(1),pp.39–45.
- Fahmi, A., Syukur, S., Chaidir, Z., & Melia, S. (2022). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Teh Hijau Fermentasi. *LUMBUNG FARMASI: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2),pp.325–330.
- 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),pp.161–169.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Ben Omar, N. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), pp.51–70.
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. 2019. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of bacteriocins: Screening and characterization. *Food Control*, 106,pp.106–713.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani. 2017. Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser*, 1(2),pp.48–49.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2021. *Pedoman pencegahan dan pengendalian infeksi di fasilitas pelayanan kesehatan*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari makanan tradisional suku Rejang di Provinsi Bengkulu: “Lemea”. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 4(1),pp.25–32.
- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C. J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance

- mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7,pp.55.
- Li et al., 2020; Li, B., Qiao, M., & Lu, F. 2020. Composition, nutrition, and utilization of okara (soybean residue). *Food Reviews International*, 36(3),pp.209–231.
- Mahendra, I. N. 2021. Pencegahan infeksi nosokomial di rumah sakit melalui implementasi keselamatan pasien. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 10(2),pp.87–95.
- Nisa, K., Jannah, S. N., & Rukmi, M. I. (2020). Isolasi dan Aktivitas Antikapang Bakteri Asam Laktat dari Tape Ketan Kemasan Plastik terhadap *Fusarium* sp . *Jurnal Akademika Biologi*, 9(2),pp.1–7.
- Peni Koriasih, Siti Nur Jannah, & Budi Raharjo. 2019. Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus* *flavus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 2(2),pp.7–13.
- Préstamo, G., Rupérez, P., Espinosa-Martos, I., Villanueva, M. J., & Lasunción, M. A. 2007. *The effects of okara on rat growth, cecal fermentation, and serum lipids. European Food Research and Technology*, 225(5–6), pp.925–928.
- Priadi, G., Setiyingingrum, F., Afifiati, F., Irzaldi, R., & Lisdiyanti, P. 2020. Studi in vitro bakteri asam laktat kandidat probiotik dari makanan fermentasi indonesia. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 31(1).
- Rahmah, W., Nandini, E., Ressandy, S. S., & Hamzah, H. 2021. Karakterisasi bakteri asam laktat (bal) dari fermentasi tape singkong.
- Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 10(1),pp.1–5.
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. 2021. Isolasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari blondo virgin coconut oil terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1),pp.56–67.
- Santosa, E. A., & Retnaningrum, E. 2020. Karakterisasi fenotipik dan aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari limbah produksi tempe. *J. Sains*, 9(1),pp.1–10.
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassolé, I. H. N., & Traoré, A. S. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria – a minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5(9),pp.678–683.
- aSikora, A., and Zahra, F. 2023. *Nosocomial Infections*. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/>
- World Health Organization (WHO). 2023. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2023*. World Health Organization.
- Wood, B. J. B. 2014. *Microbiology of fermented foods* Springer Science & Business Media, 1(2).
- Yang, S.-C., Lin, C.-H., Sung, C. T., & Fang, J.-Y. 2018. Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2104.
- Zhao, X., Zhu, H., & Zhang, X. 2022. Comparative analysis of amino acid profiles between soy milk and cow milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104562.