

JURNAL PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA

Mutu Sosis Fermentasi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Selama Penyimpanan Suhu Ruang	Rita Marsuci Harmain, Linawati Hardjito, Winarti Zahiruddin	80-93
Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Ikan Nila dan Tongkol terhadap Bakteri Merugikan Produk Perikanan	Rinto, Ade Dwi Sasanti, Kusumawati Fitria	94-100
Kandungan Gizi Keong Ipong-Ipong (<i>Fasciolaria salmo</i>) Akibat Metode Pengolahan	Sri Purwaningsih, Ella Salamah, Tiza Yunisca Sari	101-109
Recovery Enzim Protease dari Jeroan Ikan Tuna dengan Teknologi Ultrafiltrasi dan Reverse Osmosis	Bambang Riyanto, Uju, Sofia Halimi	110-118
Efektivitas Kitosan Mikrokristalin sebagai Alternatif Antibakteri Alami dalam <i>Mouthwash</i>	Bustami Ibrahim, Pipih Suptijah, Ahmad Zahid	119-126
Isolasi dan Identifikasi Awal Senyawa Inhibitor RNA Helikase Virus Hepatitis C dari Ekstrak Buah Mangrove <i>Avicennia marina</i> (Forsk.) Vierh	A. Zaenal Mustopa, Melki, Ika Sari Kusumawati	127-135
Aktivitas Biologis Tepung Biji Teratai Pra-Masak sebagai Produk Pangan Pencegah Diare	Yuspihana F, Rita Khairina, Ika K. Oktaviyanti	136-147
Toksitasitas Akut Ekstrak Metanol Rumput Laut Cokelat <i>Sargassum echinocarpum</i>	Muhamad Firdaus, Made Astawan, Deddy Muchtadi, Tutik Wresdiyati, Sarwono Waspadji, Setyawati S. Karyono	148-155
Karakteristik Protein dan Asam Amino Daging Rajungan (<i>Portunus pelagicus</i>) Akibat Pengukusan	Agoes M Jacob, Nurjanah, Lenni Asnita Br Lingga	156-163
Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim Katepsin dari Ikan Bandeng (<i>Chanos Chanos</i> Forskall)	Tati Nurhayati, Ella Salamah, Nico Dyannar	164-172



JURNAL PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA

Ketua Redaksi : Kustiariyah Tarman

Dewan Redaksi : Nurjanah
Tati Nurhayati
Sugeng Heri Suseno
Linawati Hardjito
Amir Husni
Hari Eko Irianto

Penyunting Pelaksana : Roni Nugraha

**Administrasi dan
kesekretariatan** : Husnul Fitriah

Sirkulasi : Rully Firmansyah

Alamat Redaksi:

Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK
Jl. Lingkar Akademik Kampus IPB
Dramaga Bogor 16680
Telp. (0251) 8622915 Fax. (0251) 8622916
E-mail: jurnalpengolahan@yahoo.com

Dipublikasikan oleh Masyarakat Pengolahan
Hasil Perikanan Indonesia (MPHPI)

Terbit 3 (tiga) kali dalam setahun

Editorial

Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI) merupakan salah satu media yang ditujukan untuk memfasilitasi penyebaran perkembangan ilmu dan teknologi di bidang pengolahan dan bioteknologi hasil perikanan dan kelautan. Cakupannya meliputi komoditi ikan dalam arti yang luas sesuai Undang-undang Perikanan No. 31 tahun 2004, yaitu "segala jenis organisme yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya berada di dalam lingkungan perairan", sehingga komoditi yang digarap meliputi flora dan fauna air.

Pada edisi ini tercermin dengan jelas dari topik yang diangkat antara lain adalah flora (rumput laut, mangrove dan teratai), sedangkan fauna terdiri atas finfish (ikan patin, nila, tongkol, tuna dan bandeng) dan shellfish (rajungan dan keong ipong-ipong).

Pertemuan ilmiah tahunan Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (MPHPI) ke-4 dalam bentuk seminar nasional akan diselenggarakan di Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 9-10 November 2012. Penyelenggara seminar kali ini adalah MPHPI Komisariat Jawa Bagian Timur.

KEPENGURUSAN

MASYARAKAT PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN INDONESIA (MPHPI)

2009-2013

Pelindung : Menteri Kelautan dan Perikanan Indonesia
Pembina : Dirjen P2HP, Es-I Mendiknas, Es-I Menperindag
Pengaroh : Dir. Usaha & Investasi, Dir. PH, Ditjen P2HP
Sekretaris Pengarah: Prof. Hari Eko Irianto
Ketua Umum: Prof. Hari Eko Irianto
Ketua I: Prof. Dr. Sukoso
Ketua II: Ir. Adi Surya
Sekretaris I: Dr. Joko Santoso
Sekretaris II: Drs. Made W. Arthajaya, MSi
Bendahara I: Dr. Ir. Nurjanah, MS
Bendahara II: Dewi Mufita
Departemen Industri: Dr. Bustami, Ir. Nur Retnowati, Ir. M. Najib
Dept. Pendidikan: Dr. Eddy Afrianto, Dr. Amir Husni,
Dr. Tri Winarni Agustini, Ir. Wini Trilaksana, MSc
Dept. Litbang: Dr. Singgih W, MS, Dr. Hartati K, Fatur R, Dr. Aef P
Dept. Pengembangan Bisnis: Dr. Linawati Hardjito, Dr. Welizar,
Ir. Jamal Basmal, MSc, Yudi, Ir. Iwan Sutanto
Sekretariat: Agus Triyanto, Nova Riana B, Dinardani Ratrisari,
Reni Pratiwi, Desniar, MSi, Dr. Agoes MJ, Dwiwitno, K. Winta
Komisariat Sumatera: Rinto, SPi, MP
Kom Jawa Bag Barat (Jabar, DKI, Banten): Ir. Evi Liviawaty, MS
Kom Jawa Bag Tengah (Jateng & DIY): Dr. Latif Sahubawa
Kom Jawa Bag Timur (Jatim & Bali): Dr. Hepy Nur Syam
Kom Kalimantan: Dr. Yuspihana Fitriah
Kom Sulawesi: Dr. Metu Salach, MSc
Kom Maluku & Papua: Dr. Petrus Wennu

AKTIVITAS PENGHAMBATAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT IKAN NILA DAN TONGKOL TERHADAP BAKTERI MERUGIKAN PRODUK PERIKANAN

Inhibitor Activity of Lactic Acid Bacteria Isolates from Tilapia and Frigate Tuna for Harmful Bacteria in Fisheries Products

Rinto*, Ade Dwi Sasanti, Kusumawati Fitria

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya

Diterima 26 Januari 2012/Disetujui 6 Agustus 2012

Abstract

Lactic acid bacteria were known has a potential for biopreservative and maintaining the safety of food products. The purpose of this research was to obtain lactic acid bacteria that capable to inhibit harmful bacteria in fisheries products. The stages of the methods were isolation of lactic acid bacteria from the digestive tract tilapia and frigate tuna with MRS agar + CaCO₃, antibacterial test against *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii*, and *Escherichia coli* using agar well diffusion method and test the alleged strengthening lactic acid bacteria. The results showed that there were two isolates of lactic acid bacteria (N¹10⁴₂ and T¹10⁵₁) that have the greatest inhibitory for harmful bacteria tested.

Key words: antibacterial, biopreservative, inhibitor harmful bacteria, lactic acid bacteria

Abstrak

Bakteri asam laktat diketahui berfungsi sebagai biopreservatif dan dapat menjaga keamanan produk pangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan menghambat bakteri yang merugikan pada produk perikanan. Tahapan metode yang dilakukan adalah isolasi bakteri asam laktat dari pencernaan ikan nila dan ikan tongkol dengan media MRS agar dan CaCO₃, uji penghambatan bakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* (bakteri pembentuk histamin), dan *Escherichia coli* dengan metode difusi sumur agar dan uji penguatan dugaan bakteri asam laktat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua isolat bakteri asam laktat yaitu N¹10⁴₂ dan T¹10⁵₁ yang mempunyai penghambatan terbesar terhadap bakteri merugikan yang diuji.

Kata kunci: antibakteri, bakteri asam laktat, biopreservatif, penghambat bakteri merugikan

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan golongan bakteri Gram-positif, katalase negatif, tidak berendospora, berbentuk bulat atau batang, menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama selama fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat juga menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti hidrogen peroksida dan bakteriosin serta dapat menurunkan pH substrat/media yang mampu menghambat pertumbuhan

bakteri lain (Chen dan Hoover 2003).

Bakteri asam laktat pada berbagai produk pangan dapat digunakan dalam menekan pertumbuhan beberapa bakteri pembusuk dan patogen untuk meningkatkan umur simpan dan keamanan pangan. Larsen *et al.* (1993) menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* TK9201 mampu menghambat bakteri *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, selain itu *Lactobacillus fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, dan *L. casei* dari susu mampu menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, dan

*Korespondensi: Taman Darmaga Permai II Blok B2 No. 34 Kec. Ciampea Bogor Telp. +62858320730 e-mail: rinto_thi@yahoo.co.id / rinto.unsri@gmail.com

Streptococcus (Saranya dan Hemashenpagam 2011). Rinto *et al.* (2006) menyatakan bahwa bakteri asam laktat (*Pediococcus acidilactici* F-11) diketahui mampu menghambat bakteri pembusuk dan pembentuk histamin, yaitu *Morganella morganii*.

Bakteri asam laktat selama ini banyak diisolasi dari produk-produk fermentasi, namun keberadaan bakteri asam laktat juga dapat ditemui pada saluran pencernaan ikan. Rinto (2010) menyebutkan bahwa pada ikan kembung segar terdapat bakteri asam laktat sebanyak $5,20 \times 10^3$ CFU/g. Penelitian Feliatra *et al.* (2004) menunjukkan bahwa pada ikan kerapu macan terdapat beberapa bakteri asam laktat, diantaranya yaitu *Lactococcus* sp., *Carnobacterium* sp., *Eubacterium* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Bifidobacterium* sp.

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan air tawar yang diminati oleh berbagai kalangan serta termasuk salah satu produk ekspor Indonesia. Proses berkembangnya bakteri pembusuk pada ikan nila menjadi salah satu faktor penyebab utama cepatnya kemunduran mutu ikan, oleh karena itu perlu dikaji penghambatan terhadap bakteri pembusuk pada ikan.

Ikan tongkol merupakan salah satu golongan ikan schombroid yang memungkinkan terbentuknya histamin (*Schombroid poisoning*). Histamin terbentuk akibat adanya perombakan histidin menjadi histamin oleh beberapa bakteri yang mempunyai enzim histidin dekarboksilase, diantaranya adalah *M. morganii*. Histamin menyebabkan alergi pada sebagian orang. Pengkajian penghambatan bakteri pembentuk histamin diperlukan untuk menekan terbentuknya histamin pada ikan-ikan schombroid seperti tongkol, tuna dan cakalang (Yuko *et al.* 2012).

Beberapa bakteri yang tergolong merugikan pada produk perikanan adalah *B. subtilis*, *M. morganii* (bakteri pembentuk histamin) dan *E. coli*. Dilihat dari pentingnya peranan bakteri asam laktat dalam menjaga kesegaran dan keamanan produk perikanan dari bakteri-bakteri yang merugikan, maka

dilakukan isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan tongkol (*Auxis thazard*). Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat BAL dari pencernaan ikan nila dan tongkol yang mampu menghambat bakteri yang merugikan pada produk perikanan yaitu *B. subtilis*, *M. morganii* dan *E. coli*.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sampel ikan nila dan ikan tongkol (sebagai sampel untuk diisolasi), media MRS broth (*de Mann Rogosa Sharpe*) (Oxoid), NB (*Nutrient Broth*) (Oxoid), agar bacteriological (Oxoid), CaCO_3 , akuades, akuabides, alkohol 70%, NaCl, larutan kristal violet, Lugol's Iodine, alkohol 96%, safranin, H_2O_2 3%, sodium azida (NaN_3), gliserol, kultur murni *B. subtilis* dari Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya, *M. morganii* dan *E. coli* non patogenik dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, jarum ose, bunsen, *magnetic stirrer*, pipet mikro, inkubator, *autoclave*, neraca analitik, mikroskop, *mixer vortex*, refrigerator, sentrifuge, tabung mikro (Eppendorf), dan jangka sorong.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu isolasi BAL dari pencernaan ikan nila dan tongkol, uji pendukung bakteri asam laktat dan pengujian BAL yang mempunyai aktivitas penghambatan terhadap *B. subtilis*, *M. morganii* dan *E. coli*

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sampel ikan bagian saluran pencernaan nila dan tongkol diambil sebanyak 1 g dimasukkan dalam akuades steril sebanyak 9 mL, lalu dihomogenkan menggunakan *mixer vortex* selama 1-2 menit. Pengenceran dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL

larutan dari tabung reaksi ke satu kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua yang diberi 9 mL akuades, dan seterusnya sampai pada tabung reaksi kelima, sehingga diperoleh seri pengenceran 10^1 sampai 10^5 (v/v). Sebanyak 1 mL larutan pencernaan ikan dipindahkan untuk ditumbuhkan pada 15 mL MRS agar + CaCO_3 1% yang ditambahkan dengan sodium azida 10 ppm, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat pada media MRS- CaCO_3 1% membentuk koloni dengan zona jernih di sekitar koloni. Beberapa koloni yang mempunyai bentuk dan luasan zona jernih yang berbeda dimurnikan dengan metode gores kuadran pada 15 mL MRS agar, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Satu koloni yang diperkirakan murni, kemudian dikultur pada 9 mL MRS agar miring untuk penyimpanan.

Uji Pendukung Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat-isolat bakteri terpilih dilakukan uji pendukung sebelum dilakukan pengujian antagonis terhadap *B. subtilis*, *M. morgani* dan *E. coli*. Pengujian ini dilakukan sebagai uji pendukung bahwa isolat-isolat bakteri terpilih merupakan bakteri asam laktat yaitu berdasarkan sifat-sifat umum bakteri asam laktat. Sifat-sifat umum bakteri asam laktat itu antara lain berbentuk batang atau bulat, Gram-positif, katalase negatif dan mampu menghasilkan asam laktat pada media pertumbuhannya, untuk itu dilakukan serangkaian pengujian guna menentukan apakah bakteri dari isolat terpilih termasuk golongan bakteri asam laktat atau tidak dengan melalui serangkaian pengujian meliputi pewarnaan Gram, morfologi koloni bakteri, dan uji katalase (Kandler dan Weiss 1986).

Uji Antagonis BAL terhadap *B. subtilis*, *M. morgani* dan *E. coli*

Tujuan dari tahap penelitian ini adalah untuk mengetahui sebatas mana BAL mampu melawan bakteri pembusuk, bakteri

pembentuk histamin dan bakteri patogen. Pengkulturan bakteri uji (*B. subtilis*, *M. morgani* dan *E. coli*) dalam 5 mL medium *Nutrient Broth* (NB) dilakukan dua hari sebelum uji antagonis, yaitu sebagai kultur murni kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Bakteri asam laktat hasil seleksi diambil sebanyak 1 ose dan ditumbuhkan pada 5 mL MRS broth, diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan dengan metode sumur agar dengan teknik dua lapis, dimulai dengan menuangkan 8 mL medium NB *soft* (dengan komposisi NB ditambahkan dengan 0,75% agar) yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji sebanyak 100 μL dari kultur murni, yaitu sebagai lapis pertama dengan ketebalan $\pm 0,2$ cm, setelah lapis pertama agak memadat, dilanjutkan lapis kedua dengan ketebalan $\pm 0,4$ cm yaitu dengan menuangkan 16 mL medium NB *soft* kemudian dibiarkan memadat, setelah memadat dibuat sumuran (lubang) dengan 4 ulangan dan 1 kontrol menggunakan akuabides. Suspensi BAL yang disiapkan sebelumnya diambil sebanyak 100 μL dan diteteskan pada 4 sumuran, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan mengukur rata-rata dari zona bening titik terdekat dan titik terjauh kemudian dikurangi diameter sumuran menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data-data yang diperoleh pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan menggambarkan/menjelaskan berbagai isolat BAL yang mempunyai daya penghambat terhadap *B. subtilis*, *M. morgani* dan *E. coli*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan dari saluran pencernaan ikan nila dan tongkol yang diperoleh dari pasar Indralaya, Ogan Ilir Sumatera Selatan. Semua isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari pengenceran 10^3

Tabel 1 Jumlah koloni bakteri asam laktat dari pencernaan ikan nila dan tongkol yang tumbuh pada media MRS agar

Sampel	Pengenceran	Σ Koloni	Σ Koloni BAL	Isolat Bakteri
Nila	10^3	TBUD	1	N^210^3
	10^4	184	7	$N^110^4_1$; $N^110^4_2$; $N^110^4_3$; $N^110^4_4$; $N^110^4_5$; $N^110^4_6$; dan $N^110^4_7$
	10^5	66	1	N^210^5
Tongkol	10^3	94	5	$T^110^3_1$; $T^110^3_2$; $T^110^3_3$; $T^110^3_4$; dan T^210^3
	10^4	78	2	$T^210^4_1$ dan $T^210^4_2$
	10^5	60	3	$T^110^5_1$; $T^110^5_2$ dan $T^110^5_3$

(mL/mL) sampai 10^5 (mL/mL) diinokulasikan pada media MRS agar dengan penambahan CaCO_3 . Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRS agar- CaCO_3 menunjukkan koloni dengan membentuk zona jernih di sekitar koloninya, yang berarti adanya produksi asam laktat oleh bakteri tersebut. Hasil isolasi bakteri disajikan pada Tabel 1.

Koloni yang memiliki ciri-ciri bentuk koloni berbeda dengan berbagai luasan zona jernih berbeda yang dipilih, sehingga diperoleh 12 isolat, yaitu 4 isolat bakteri dari ikan nila dan 8 isolat bakteri dari ikan tongkol. Data selengkapnya disajikan pada Tabel 2. Sebanyak 12 isolat bakteri terpilih tersebut kemudian dimurnikan menggunakan media goresan kuadran (*streak quadrant*) (Mohankumar dan Murugalatha 2011).

Uji Pendukung Bakteri Asam Laktat

Hasil uji pendugaan 12 isolat disajikan pada Tabel 3. Hasil pewarnaan Gram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 12 isolat terpilih memberikan pewarnaan ungu, yang berarti termasuk dalam golongan bakteri Gram-positif. Terbentuknya warna ungu pada bakteri Gram-positif disebabkan lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri yang tebal dan hanya mempunyai membran sel selapis, sehingga mampu mengikat kristal violet (Atlas 2001). Bakteri asam laktat termasuk dalam golongan bakteri Gram-positif. Hasil

Tabel 2 Isolat bakteri asam laktat terpilih dari pencernaan ikan nila dan tongkol

Sampel	Isolat Bakteri	Keterangan
Nila	N^210^3 , $N^110^4_1$, $N^110^4_2$, N^210^5	4 isolat
Tongkol	$T^110^3_1$; $T^110^3_2$; $T^110^3_3$; $T^210^4_1$; $T^210^4_2$; $T^110^5_1$; $T^110^5_2$; $T^110^5_3$	8 isolat

pengamatan morfologi yang telah dilakukan pada 12 isolat terpilih menunjukkan bahwa semua bakteri tersebut memiliki hasil yang sama yaitu sel berbentuk batang. Hasil uji katalase dengan menambahkan H_2O_2 sebagai reagen, katalase positif menunjukkan timbulnya gelembung udara yang memberikan indikasi terbentuknya gas O_2 dari pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase bakteri tersebut. Hasil uji katalase yang telah dilakukan pada 12 isolat terpilih menunjukkan reaksi negatif yaitu tidak menghasilkan gelembung udara. H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri sehingga tidak menghasilkan oksigen, hal ini berarti isolat terpilih tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H_2O_2 . Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak mampu memproduksi enzim katalase (Kivanc *et al.* 2011).

Hasil uji pendugaan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 12 isolat terpilih, yaitu 4 isolat dari saluran pencernaan ikan nila

Tabel 3 Uji pendukung isolat bakteri asam laktat (BAL) terpilih

Isolat Bakteri	Gram	Bentuk	Katalase
N ² 10 ³	+	Batang	-
N ¹ 10 ⁴ ₁	+	Batang	-
N ¹ 10 ⁴ ₂	+	Batang	-
N ² 10 ⁵	+	Batang	-
T ¹ 10 ³ ₁	+	Batang	-
T ¹ 10 ³ ₂	+	Batang	-
T ¹ 10 ³ ₃	+	Batang	-
T ² 10 ⁴ ₁	+	Batang	-
T ² 10 ⁴ ₂	+	Batang	-
T ¹ 10 ⁵ ₁	+	Batang	-
T ¹ 10 ⁵ ₂	+	Batang	-
T ¹ 10 ⁵ ₃	+	Batang	-

dan 8 isolat dari saluran pencernaan ikan tongkol tergolong dalam bakteri asam laktat, karena memiliki sifat-sifat umum dari bakteri asam laktat. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa bakteri asam laktat ini mendekati genus *Lactobacillus*, dengan ciri-ciri sel berbentuk batang, Gram-positif dan tidak memproduksi katalase. Hasil penelitian Feliatra *et al.* (2004) menunjukkan bahwa *Lactobacillus*, mempunyai bentuk sel batang, Gram-positif, katalase negatif dan tumbuh optimum pada suhu 30-37 °C.

Uji Antagonis BAL terhadap *B. subtilis*, *M. morgani* dan *E. coli*

Metode yang digunakan adalah metode sumur agar (*agar well diffusion*) (Schillinger dan Lucke 1989). Metode sumur agar mempunyai daya tampung yang lebih besar dibanding menggunakan kertas cakram sehingga zona hambat yang terbentuk tidak melebar. Aktivitas hambat bakteri asam laktat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumur (lubang) yang disebut zona hambat, ini dimungkinkan jika bakteri asam laktat mampu menghasilkan substansi antimikroba. Sumuran dibuat dengan diameter 7 mm.

Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa dari 12 isolat bakteri asam laktat yang

menghasilkan zona hambat terbaik adalah isolat N¹10⁴₂ dan T¹10⁵₁ (Tabel 4).

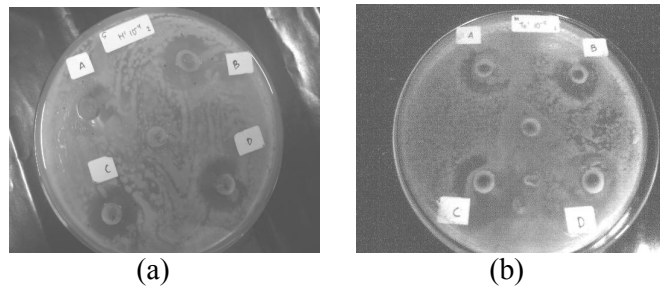
Aktivitas penghambatan terbesar pada N¹10⁴₂ terhadap *B. subtilis* sebesar 14,0 mm, terhadap *M. morgani* sebesar 10,5 mm, dan terhadap *E. coli* sebesar 5,6 mm, sedangkan pada T¹10⁵₁ aktivitas penghambat terbesar terhadap *B. subtilis* sebesar 12,5 mm, terhadap *M. morgani* sebesar 10,8 mm, dan terhadap *E. coli* sebesar 9,0 mm. Zona jernih sebagai hasil penghambatan isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri uji disajikan pada Gambar 1.

Isolat N¹10⁴₂ dan T¹10⁵₁ dinyatakan sebagai isolat terbaik karena mempunyai aktivitas zona hambat terbesar terhadap ketiga bakteri uji dibandingkan isolat lainnya. Anteneh *et al.* (2011) menyatakan bahwa bakteri asam laktat dinyatakan memiliki kemampuan unggul apabila menghasilkan zona hambat terbesar, semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin unggul pula bakteri asam laktat itu dalam menghambat aktivitas hidup bakteri uji. Kemampuan penghambatan dimungkinkan karena adanya substansi antimikroba yaitu asam laktat, hidrogen peroksida, CO₂ maupun bakteriosin. Sebagian besar penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri uji/antagonis lebih disebabkan oleh adanya bakteriosin, sehingga dalam penelitian ini, bakteri

Tabel 4 Diameter zona hambat bakteri asam laktat terhadap bakteri uji

Isolat BAL	Diameter Zona Hambat (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>M. morgani</i>	<i>E. coli</i>
N ² 10 ³	13,5	10,5	5,0
N ¹ 10 ⁴ ₁	-	-	-
N¹10⁴₂	14,0	10,5	5,6
N ² 10 ⁵	-	13,0	6,3
T ¹ 10 ³ ₁	13,0	-	-
T ¹ 10 ³ ₂	-	8,5	-
T ¹ 10 ³ ₃	21,0	-	-
T ² 10 ⁴ ₁	-	-	-
T ² 10 ⁴ ₂	15,5	8,5	1,8
T¹10⁵₁	12,5	10,8	9,0
T ¹ 10 ⁵ ₂	14,0	8,5	1,4
T ¹ 10 ⁵ ₃	17,5	-	-

Ket: Isolat yang dicetak tebal adalah isolat terbaik



Gambar 1 Zona hambat (zona jernih) pada isolat (a) $N^{10^4}_2$ dan (b) $T^{10^5}_1$.

antagonis *B. subtilis*, *M. morgani*, dan *E. coli* mengalami penghambatan pertumbuhan. Isolat yang tidak membentuk zona hambat dimungkinkan karena komponen bioaktif yang terbentuk tidak mampu melawan/menghambat aktivitas bakteri uji (Sharaf dan Al Harbi 2011).

Perbedaan aktivitas penghambatan bakteri asam laktat dimungkinkan berasal dari beragamnya bakteriosin yang dihasilkan oleh spesies bakteri asam laktat, seperti bakteriosin yang telah dikarakterisasi pada *L. brevis* yaitu brevicin yang mampu menghambat dengan baik *S. aureus*, bakteriosin pada *L. plantarum* yaitu plantaricin juga mampu menghambat *S. aureus* (Chen dan Hoover 2003).

Nisin mampu menghambat *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* dan bakteri asam laktat lain (Meghrous et al. 1999). Pediocin PA-1 dapat menghambat *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* dan bakteri asam laktat lain (Eijsink et al. 1998). Sakacin A menghambat *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus cereus* serta BAL lainnya (Guyonnet et al. 2000). Bakteriosin pada *Pediococcus acidilactici* F-11 yaitu pediosin mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk histamin *M. morgani* (Rinto 2010).

KESIMPULAN

Sebanyak 12 isolat bakteri asam laktat berhasil diperoleh dari sampel saluran pencernaan ikan nila dan tongkol. Dua isolat terbaik dari 12 isolat bakteri asam laktat mampu menekan pertumbuhan *B. subtilis*, *M. morgani*, dan *E. coli* melalui uji antagonis

dengan metode sumur agar, yaitu isolat $N^{10^4}_2$ dan $T^{10^5}_1$.

DAFTAR PUSTAKA

- Anteneh, T, Tetemke M, Mogessie A. 2011. Antagonism of lactic acid bacteria against foodborne pathogens during fermentation and storage of borde and shamita, traditional Ethiopian fermented beverages. *International Food Research Journal* 18(3): 1189-1194.
- Atlas RM. 2001. *Principle of Microbiology*. Second Edition. Iowa: Wm.C. Brown Publisher.
- Chen H, Hoover DG. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2: 82-100.
- Eijsink VGH, Skeie M, Middelhoven PH, Brurberg MB, Nes IF. 1998. Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 3275-3281.
- Feliatra, Efendi I, Suryadi E. 2004. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscogattus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2): 75-80.
- Guyonnet D, Fremaux C, Cenatiempo Y, Berjeaud JM. 2000. Method for rapid purification of class IIa bacteriocins and comparison of their activities. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1744-1748.
- Kandler O, Weiss N. 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2: 1209-1234.

- Kivanc M, Yilmaz M, Cakir E. 2011. Isolation and identification of lactic acid bacteria from boza, and their microbial activity against several reporter strains. *Turkish Journal of Biology* 35: 313-324.
- Larsen AG, Vogensen FK, Josephsen J. 1993. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *Journal of Applied Bacteriology* 75: 113-22.
- Meghrous J, Lacroix C, Simard RE. 1999. The effects on vegetative cells and spores of 3 bacteriocins from lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 16: 105-114.
- Mohankumar A, Murugalatha N. 2011. Characterization and antibacterial activity of bacteriocin producing *Lactobacillus* isolated from raw cattle milk sample. *International Journal of Biology* 3(3): 128-142.
- Rinto, Rahayu ES, Indrati R. 2006. Aplikasi *Pediococcus acidilactici* F-11 dalam menghambat pembentukan histamin selama fermentasi peda. Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Diseminasi Teknologi Pengembangan Hasil Perikanan di Universitas Lampung tanggal 4-5 Desember 2006.
- Rinto. 2010. Perubahan kandungan mikroflora akibat penambahan starter *Pediococcus acidilactici* F-11 dan garam selama fermentasi peda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 13(1): 35-47.
- Saranya S, Hemashenpagam N. 2011. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of lactic acid bacteria from fermented dairy products. *Advances in Applied Science Research* 2(4): 528-534.
- Schillinger U, Lucke FK. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 1901-1906.
- Sharaf EF, Al Harbi RM. 2011. Isolation, identification and antimicrobial activity of some isolates of lactic acid bacteria. *Researches Journal of Microbiology* 6(12): 826-838.
- Yuko T, Hajime T, Takashi K, Bon K. 2012. Analysis of the growth of histamine-producing bacteria and histamine accumulation in fish during storage at low temperatures. *Food Control* 26(1): 174-177.