

Amobilisasi Sel
(Ella Saparianti)

**AMOBILISASI SEL *Pediococcus acidilactici* F11
PENGHASIL BAKTERIOSIN PADA GEL KALSIMUM ALGINAT**

Ella Saparianti*

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai amobilisasi sel *Pediococcus acidilactici* F11 yang dapat menghasilkan bakteriosin pada gel aksium alginat. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari kemampuan sel amobil F11 untuk menghasilkan bakteriosin dalam media TGE cair dengan pH awal 6,5 pada inkubator bergoyang (100 rpm, suhu 37°C) selama 24 jam.

Amobilisasi sel dilakukan dengan cara meneteskan campuran masa sel dengan larutan 3% sodium alginat pada larutan 0,1M kalsium klorida. Prosedur yang dilakukan pada penelitian ini telah berhasil menjerat lebih dari 99% masa sel yang dipersiapkan untuk diamobilisasi, Densitas sel pada manik-manik berkisar pada $1,4 \times 10^9$ – $1,6 \times 10^{10}$ cfu/g manik-manik. Kemampuan sel amobil F11 dalam menghasilkan bakteriosin secara kualitatif sama dengan sel bebas. Sel amobil maupun sel bebas F11 juga menunjukkan aktivitas yang sama dalam menurunkan pH media.

Kata kunci : amobilisasi sel, *Pediococcus acidilactici* F11, bakteriosin, gel kalsium alginat

**IMMOBILIZED CELL *Pediococcus acidilactici* F11
as BACTERIOCIN PRODUCER in CALCIUM ALGINATE**

Abstract

Immobilized cell *Pediococcus acidilactici* F11 that can produce bacteriocin in calcium alginate gel was studied. This research was conducted to observe the ability of immobilized cell to produce bacteriocin in TGE broth with initial pH 6,5 in a shaker waterbath at 100 rpm and 37°C for 24 hours.

The cell was immobilized by dropping the mixed of 3% sodium alginate with microbial cells to 0,1 M calcium chloride solution. More than 99% of cell introduced was successfully immobilized. The cell density in beads was in the range of $1,4 \times 10^9$ to $1,6 \times 10^{10}$ cfu /g beads.

The ability of immobilized cell and free cell to produce bacteriocin was similar qualitatively. They also showed similar pH profile during the time of fermentation.

Keywords : immobilized cell, *Pediococcus acidilactici* F11, bacteriocin, calcium alginate gel

PENDAHULUAN

Amobilisasi sel didefinisikan oleh Chibata (1978) sebagai suatu metoda untuk mengurung atau menempatkan sel mikroba secara fisik pada suatu ruang tertentu dimana sel masih memiliki aktivitas katalitik serta dapat dipergunakan secara kontinu dan berulang kali. Keadaan sel yang teramobil ini bisa dalam keadaan tumbuh, istirahat (resting) dan atau pada keadaan autolisis. Di dalam beberapa kasus, sel mikroba yang teramobilisasi dalam

keadaan mati, tapi tetap masih menunjukkan aktivitas enzim.

Keuntungan teknik amobilisasi sel diantaranya adalah dapat dipakai pada sistem kontinu, dapat digunakan secara berulang pada sistem batch, dapat dimanfaatkan untuk ekskresi metabolit sekunder, dapat melindungi dari gangguan aliran turbulen serta dapat mencegah inaktivasi interfacial (Tramper, 1990 *di dalam* Champagne dkk, 1994).

* Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya

Teknik amobilisasi sel terhadap bakteri asam laktat secara luas telah diteliti dan diterapkan terutama untuk keperluan produk-produk fermentasi susu. Chenet dkk. (1996) melaporkan bahwa Wan dkk pada tahun 1995 telah berhasil melakukan produksi bakteriosin dari bakteri asam laktat dengan menggunakan teknik amobilisasi sel *Lactobacillus brevis* VB 286 penghasil brevisin 286, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* penghasil nisin dan *Pediococcus acidilactici* PO2 penghasil pediosin PO2. Sel bakteri asam laktat tersebut secara terpisah dijerat dalam matriks Ca-alginat dan produksi bakteriosin dilakukan pada kolom secara kontinu. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa produksi bakteriosin menggunakan teknik amobilisasi sel hampir sama dengan kondisi fermentasi dengan menggunakan sel bebas.

Pediococcus acidilactici F11 berpotensi menghasilkan bakteriosin sebagai substansi antimikrobia (Ray, 1992 dan Ray, 1996). Karena itulah maka perlu dilakukan kajian awal apakah teknik amobilisasi sel berpengaruh terhadap kemampuan bakteri *Pediococcus acidilactici* F11 dalam menghasilkan bakteriosin, sehingga dapat memberikan informasi mengenai penggunaan teknik amobilisasi sel sebagai upaya peningkatan produksi bakteriosin.

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh jumlah sel yang akan diamobilisasi terhadap jumlah sel yang teramobil dan densitas sel pada manik-manik sel amobil dan mempelajari kemampuan sel amobil dan sel bebas dalam menghasilkan substansi antimikrobia (bakteriosin).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Jenis bakteri yang dipakai pada penelitian ini yaitu *Pediococcus acidilactici* F11 (F11) sebagai penghasil bakteriosin dan *Leuconostoc mesenteroides* LY (Ly) sebagai mikroba indikator untuk pengujian ada tidaknya substansi antimikrobia (bakteriosin). Kedua bakteri ini diperoleh dari Prof. Bibek Ray, University of Wyoming, USA.

Medium yang dipakai untuk pemeliharaan kultur, persiapan kultur dan

fermentasi (produksi bakteriosin) adalah TGE cair. Medium TGE agar dipakai untuk penghitungan jumlah bakteri dan pengujian substansi antimikrobia. Medium lain yang dipakai untuk fermentasi kultur bakteri adalah MRS cair.

Bahan penjerat untuk amobilisasi sel adalah Sodium alginat (Sigma) yang berasal dari *Macrocystis pyrifera*, larutan pengeras CaCl_2 0,1 M. Larutan pengencer yang dipakai dalam seri pengenceran untuk penghitungan bakteri atau untuk pembilasan masa sel adalah larutan buffer fosfat fisiologis. Larutan peptone water 0,1% dipakai untuk pembilasan dan penyimpanan gel manik sel amobil. Larutan buffer fosfat 0,2 M pH 7,4 digunakan untuk pelarutan gel manik sel amobil.

Peralatan penelitian yang dipakai pada penelitian ini meliputi alat sterilisasi (autoclave), inkubator, sentrifusa, pH meter, spektrofotometer, timbangan analitik, vortex, water bath, shaker water bath, refrigerator, pipetman (Gilson, Socorex), pengaduk magnetik (Termolyne), penghitung koloni, sendok spatula stainless steel, lampu spiritus jarum ose, gelas obyek, gelas penutup, stop watch, rak tabung reaksi dan peralatan gelas (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur dan tabung crovial).

Prosedur Penelitian

Kultur sel F11 yang telah tumbuh pada media TGE cair (37°C, 24 jam) disentrifusa (3500 rpm, 15 menit, 4°C) sehingga diperoleh masa sel F11. Selanjutnya masa sel F11 dicampur dengan 5 ml larutan 3% sodium alginat steril. Untuk memperoleh manik-manik sel amobil F11 maka campuran tersebut ditetaskan pada larutan CaCl_2 0,1 M steril (pada pengaduk magnetik Termolyne skala 1). Manik-manik sel amobil F11 dibilas dengan larutan 0,1% peptone water (2 kali). Manik-manik sel amobil F11 yang diperoleh disimpan dalam larutan 0,1% peptone water steril pada suhu 4°C.

Untuk mengetahui jumlah sel yang teramobil, maka dilakukan penghitungan jumlah bakteri pada tahap penyiapan kultur dan tahap amobilisasi sel F11 mengikuti metode SPC (*Standar Plate Count*). Bagian-bagian yang

Amobilisasi Sel (Ella Saparianti)

dihitung adalah jumlah sel pada suspensi sel kultur starter, supernatan kultur starter setelah sentrifusa, manik-manik sel amobil dan bilasan manik-manik sel amobil. Untuk menghitung jumlah bakteri pada manik-manik, terlebih dahulu dilakukan pelarutan gel manik-manik pada larutan buffer fosfat steril 0,2M pH 7,4.

Pada penelitian ini dilakukan pula pengamatan pengaruh media fermentasi (yang biasa dipakai untuk produksi bakteriosin dari bakteri asam laktat, yaitu TGE dan MRS cair) terhadap kondisi fisik manik-manik sel amobil F11. Fermentasi berlangsung selama 24 jam pada shaker water bath (100 rpm, 37°C).

Kemampuan sel amobil dalam menghasilkan bakteriosin dilakukan dengan cara menginokulasi sel amobil (5%, b/v) pada media TGE cair steril (skala 200 ml). Fermentasi berlangsung selama 24 jam pada shaker water bath (100 rpm, 37°C). Sebanyak 5% suspensi sel kultur starter juga diinokulasikan pada medium TGE cair steril sebagai kontrol fermentasi menggunakan sel bebas. Pada sampel juga dilakukan pengukuran nilai pH menggunakan pH meter. Sampel substansi antimikrobia yang diperoleh pada medium fermentasi dianggap sebagai bakteriosin kasar. Sampel substansi antimikrobia diambil 5 – 8 ml pada jam ke-3,6,9,12,16,20, dan 24 yang selanjutnya dilakukan pengujian substansi antimikrobia.

Sebelum dilakukan pengujian maka terlebih dahulu dilakukan penyiapan substansi antimikrobia untuk pengujian bakteriosin. Sampel dipanaskan pada water bath 100°C selama 10-15 menit. Pemanasan dimaksudkan untuk mematikan sel serta enzim-enzim proteolitik lain yang dapat mempengaruhi pengujian substansi antimikrobia. Sampel selanjutnya disentrifusa (3500 rpm, 15 menit) untuk memisahkan masa sel dengan supernatan yang mengandung substansi antimikrobia.

Pengujian substansi antikirobia dilakukan dengan metode overlay dengan menggunakan bakteri indikator Ly (*Leuconostoc mesenteroides*). Sebanyak 5 ml TGE agar keras (media TGE cair ditambah 2,5% agar) dituangkan pada cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Kemudian dilapis (dioverlay) dengan TGE agar lunak (media TGE

cair ditambah 0,8% agar) yang sudah ditambahkan dengan 40µl suspensi sel Ly umur 18-24 jam dan dibiarkan memadat. Cawan petri berisi medium TGE agar berlapis tersebut disimpan pada suhu 4°C, selama ± 1 jam sehingga agar memadat. Di atas agar berlapis tersebut kemudian ditetesi 5µl sampel substansi antimikrobia. Tetesan substansi antimikrobia pada medium TGE agar berlapis tersebut dibiarkan sampai mengering dan meresap ke dalam agar, dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 16 – 20 jam. Aktivitas substansi antimikrobia diamati dengan melihat ada tidaknya zone jernih yang terbentuk pada koloni bakteri indikator Ly (zone jernih menunjukkan adanya bakteriosin).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amobilisasi Sel

Teknik amobilisasi sel yang dipakai pada penelitian ini adalah teknik penjeratan sel pada matriks gel kalsium alginat. Metode pembentukan manik-manik yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode ekstrusi atau metode tetesan. Teknik penjeratan pada matriks gel kalsium alginat ini secara teknis sangat sederhana dan mudah dilaksanakan dan sangat cocok untuk amobilisasi sel viabel (Groboillot dkk, 1994; Tampion dan Tampion, 1987).

Manik sel amobil F11 diperoleh dengan cara meneteskan campuran masa sel *Pediococcus acidilactici* F11 yang berumur 24 jam dengan 5 ml larutan 3% sodium alginat steril pada larutan 0,1 M larutan CaCl₂ steril. Manik-manik sel amobil yang terbentuk merupakan matriks gel kalsium alginat yang dapat menjerat sel F11. Manik-manik sel amobil F11 yang diperoleh pada penelitian ini relatif seragam berupa bola-bola kecil dengan diameter rata-rata 3,49 mm.

Pada tahap amobilisasi ini dilakukan variasi jumlah sel yang akan diamobilisasi untuk melihat pengaruhnya terhadap jumlah sel yang teramobil dan densitas sel pada manik-manik sel amobil F11. Sel amobil F11 yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat selengkapnya pada Tabel 1.

Variasi jumlah sel yang akan diamobilisasi pada selang $3,6 \times 10^9$ cfu sampai $3,7 \times 10^{10}$ cfu dapat memberikan densitas sel

pada manik-manik mulai $1,4 \times 10^9$ sampai $8,5 \times 10^9$ cfu/g manik. Pada variasi sel awal $7,4 \times 10^{10}$ cfu baru dapat memberikan densitas sel pada manik-manik $1,6 \times 10^{10}$ cfu/g manik. Dengan melihat hasil pada Tabel 1. Ternyata jumlah sel yang akan diamobilisasi yang berbeda akan menghasilkan densitas sel pada manik-manik yang berbeda-beda. Peningkatan jumlah sel yang akan diamobilisasi sejalan dengan peningkatan jumlah sel yang teramobil dan densitas sel pada manik-manik.

Variasi jumlah sel yang akan diamobilisasi tidak berpengaruh terhadap presentasi jumlah sel yang teramobil, dimana presentasinya ada pada kisaran 99,73 – 99,94%. Teknik amobilisasi sel yang diterapkan pada penelitian ini cukup efektif dalam menjerat masa sel F11. Hal ini ditunjukkan dengan presentasi sel yang teramobil di atas 99% dan jumlah sel yang tidak teramobil dibawah 0,3%. Keadaan ini menunjukkan bahwa sebagian besar sel F11 sudah terjerat dalam matriks penjerat gel kalsium alginat. Hal ini juga menunjukkan bahwa walaupun dilakukan peningkatan jumlah sel yang akan diamobilisasi ternyata gel kalsium alginat masih mampu

menjerat masa sel F11 pada presentasi yang tinggi.

Angka jumlah sel yang tidak teramobil merupakan jumlah sel hidup yang terdapat pada sisa larutan CaCl_2 dan larutan pembilas. Presentasi jumlah sel yang tidak teramobil berada pada kisaran kurang dari 0,3%. Jumlah sel yang teramobil ditentukan dengan menghitung selisih antara jumlah sel yang akan diamobilisasi dengan jumlah sel yang tidak teramobil (yang terdapat pada sisa larutan CaCl_2 saat pembentukan manik-manik sel amobil dan larutan water pepton sebagai pembilas manik-manik).

Penentuan densitas sel pada manik-manik dilakukan dengan teknik plating yang didahului dengan pelarutan matriks gel kalsium alginat pada larutan buffer fosfat 0,2 M pH 7,4. Buffer fosfat dan sitrat menurut Tampion dan Tampion (1987) dapat melumatkan manik-manik gel alginat. Menurut Tampion dan Tampion (1987) matriks gel Ca-alginat dalam bentuk yang tidak larut air bersifat reversibel sehingga dapat dikembalikan pada bentuk yang dapat larut dan pada akhirnya sel dapat dibebaskan kembali.

Tabel 1.
Manik-manik sel amobil F11 dengan variasi jumlah sel yang akan diamobilisasi

Volume Kultur Sel F11 (ml)	Jumlah sel yang akan diamobilisasi (cfu)	Jumlah sel yang teramobil (cfu)	Jumlah sel yang tidak teramobil (cfu)	Densitas sel pada manik-manik sel amobil F11 (cfu/g manik)
5 ml (1 x @ 5 ml)	$7,5 \times 10^9$	$7,4914 \times 10^9$ (99,89%)	$8,6 \times 10^6$ (0,11%)	$1,4 \times 10^9$
10 ml (2 x @ 5ml)	$1,5 \times 10^{10}$	$1,4972 \times 10^{10}$ (99,81%)	$2,8 \times 10^7$ (0,19%)	$3,1 \times 10^9$
15 ml (3 x @ 5ml)	$1,3 \times 10^{10}$	$1,2968 \times 10^{10}$ (99,76%)	$3,2 \times 10^7$ (0,24%)	$3,6 \times 10^9$
45 ml (9 x @ 5 ml)	$2,2 \times 10^{10}$	$2,1972 \times 10^{10}$ (99,87%)	$2,8 \times 10^7$ (0,13%)	$3,8 \times 10^9$
75 ml (15 x @ 5 ml)	$3,7 \times 10^{10}$	$3,6979 \times 10^{10}$ (99,94%)	$2,1 \times 10^7$ (0,06%)	$8,5 \times 10^9$
100 ml	$7,4 \times 10^{10}$	$7,3800 \times 10^{10}$ (99,73%)	$2,0 \times 10^8$ (0,27%)	$1,6 \times 10^{10}$

Angka densitas sel yang dihasilkan ($1,4 \times 10^9$ – $1,6 \times 10^{10}$ cfu/g manik) menunjukkan viabilitas sel amobil yang tinggi pada tiap gram

manik, berdasar pada jumlah sel yang terhitung adalah jumlah sel teramobil yang masih hidup yang berada dalam tiap gram manik-manik.

Manik gel kalsium alginat dapat mempertahankan viabilitas sel yang teramobil dalam manik-manik sel amobil F11. Gel kalsium alginat mempunyai kelebihan dalam mempertahankan aktivitas sel, aman sebagai bahan pangan dan tidak bersifat toksik (Bucke, 1982). Viabilitas sel pada manik sel amobil F11 juga dipertahankan dengan cara menyimpan manik sel amobil F11 dalam larutan 0,1% peptone water (larutan fisiologis). Densitas sel pada manik-manik yang diperoleh pada penelitian ini hampir sama dengan angka yang diperoleh peneliti-peneliti lain pada kisaran 10^9 – 10^{10} cfu/g manik-manik (Champagne dkk, 1992; Audet dkk, 1989; Barbotin dkk *di dalam* Groboillot dkk, 1994; Champagne dkk, 1994; Passos dan Swaisgood, 1993; Morin dkk, 1992; Sodini –Gallot dkk, 1995).

Pengaruh Media Fermentasi terhadap Kondisi Fisik Manik-manik

Bahan penjerat yang dipakai untuk amobilisasi sel selain harus mempunyai kemampuan mempertahankan viabilitas dan aktivitas sel, juga harus mempunyai kekuatan gel yang baik dan tidak mengalami kerusakan selama fermentasi, terutama untuk tujuan penggunaan berulang manik sel amobil. Manik sel amobil harus tahan terhadap kondisi lingkungan fermentasi baik terhadap substrat maupun produk fermentasi. Pada penelitian ini ketahanan matriks gel kalsium alginat diujikan pada media fermentasi untuk produksi bakteriosin yaitu MRS dan TGE cair.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media MRS cair selama 24 jam fermentasi berpengaruh terhadap kondisi fisik manik-manik sel amobil F11, dimana terdapat bagian manik-manik sel amobil yang terlarut. Pemakaian media MRS cair memberikan kerusakan manik-manik (11 – 20%) lebih tinggi daripada pemakaian media TGE cair yang hanya memberikan kerusakan dibawah 3%. Selama fermentasi, selain terjadi kerusakan manik-manik (manik-manik pecah atau terbelah) terdapat juga bagian manik-manik yang terlarut. Bagian manik-manik yang terlarut pada pemakaian media MRS cair lebih banyak daripada pemakaian TGE cair, sehingga media fermentasi menjadi lebih keruh. Karena

fermentasi dilakukan pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm, maka kerusakan manik-manik juga dapat terjadi karena pengaruh guncangan gangguan mekanik.

Komposisi pada media MRS cair menunjukkan adanya sistem buffer fosfat, dimana pada setiap liter media MRS cair terkandung 2 g di-Potasium Hidrogen Fosfat (0,0115 M). Keberadaan fosfat pada media MRS tersebut dapat membrikan pengaruh terhadap struktur gel dan dapat mengakibatkan gel menjadi bentuk yang terlarut. Komposisi media MRS cair menunjukkan kemampuan kapasitas buffer yang tinggi dibandingkan dengan TGE cair yang memiliki kapasitas buffer yang rendah (Biswas dkk, 1991 *di dalam* Ray dan Hoover, 1993). Kapasitas buffer yang rendah yang dimiliki media TGE cair dapat memberikan hasil yang lebih baik pada tingkat produksi pediosin AcH aktif. Media TGE cair mampu menyediakan kondisi lingkungan yang lebih asam untuk menghasilkan pediosin AcH aktif daripada media MRS cair (Biswas dkk, 1991).

Karena itulah maka pada penelitian ini ditetapkan media TGE cair sebagai media untuk fermentasi dengan sel amobil maupun sel bebas. Ada dua keuntungan yang dapat diperoleh pada penggunaan media TGE cair ini, selain tidak terlalu mengganggu struktur gel Ca-alginat juga diharapkan dapat memberikan tingkat produksi bakteriosin yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan media MRS cair.

Aktivitas Sel Amobil F11 selama Fermentasi

Aktivitas sel amobil F11 selama fermentasi yang diamati pada penelitian ini adalah kemampuan sel amobil dalam menghasilkan bakteriosin dan kemampuan sel amobil dalam menurunkan pH media yang kemudian dibandingkan dengan sel bebas. Kemampuan sel amobil dalam menghasilkan bakteriosin diuji secara kualitatif pada bakteri indikator Ly dengan metode overlay. Aktivitas penurunan pH menunjukkan aktivitas sel amobil F11 dalam memanfaatkan substrat untuk menghasilkan produk yang berarti bahwa pada kondisi tersebut telah terjadi fermentasi laktat.

Setelah fermentasi selama 24 jam, ternyata pH akhir yang dicapai pada fermentasi

yang menggunakan sel amobil F11 berkisar antara 3,796-3,801, sedangkan pada sel bebas dicapai pH rata-rata 3,825. Adanya penurunan pH menunjukkan bahwa selama fermentasi terjadi pembentukan asam. Pada kondisi anaerobik, bakteri asam laktat grup pediokoki akan memfermentasi glukosa menjadi (DL) atau L(+) laktat (Simpson dan Taguchi, 1995). Menurut Kozaki *di dalam* Rahayu dkk (1997) disebutkan bahwa *Pediococcus acidilactici* dapat membentuk (DL) asam laktat dari glukosa serta dapat memfermentasi ribosa, arabinosa dan atau xylosa.

Menurut Tampion dan Tampion (1987) dalam amobilisasi sel terdapat dua sistem yaitu sistem sel dan sistem amobilisasi. Penurunan pH yang terjadi selama fermentasi dengan menggunakan sel amobil F11 (Gambar 1.) menunjukkan bahwa asam laktat hasil fermentasi glukosa telah dilepaskan ke luar sel. Hal ini dapat dijelaskan bahwa media TGE cair sebagai sumber energi dan nutrisi bagi sel dapat berdifusi ke dalam manik kemudian masuk ke dalam sel melalui sistem permeabilitas selektif membran sel sehingga sel dapat melakukan

fermentasi glukosa menjadi asam laktat. Selanjutnya asam laktat (berat molekul 90) dikeluarkan oleh sel dan berdifusi ke luar manik alginat. Menurut Sayles dan Ollis *di dalam* Champagne dkk (1994), pada saat proses fermentasi dengan menggunakan sel amobil yang diperoleh melalui teknik penjeratan akan terjadi pindah masa medium cair ke dalam sel. Pindah masa ini akibat dari transpor partikel masa dan difusi di dalam celah matrik berpori.

Aktivitas sel *Pediococcus acidilactici* F11 dalam keadaan bebas maupun teramobil menunjukkan hasil yang positif terhadap munculnya substansi antimikrobia (pediosin AcH). Pediosin AcH dengan berat molekul 2700 (Ray dan Daeschel, 1992, Bhunia dkk, *di dalam* Hoover dan Steenson, 1993) mampu berdifusi melalui pori-pori manik alginat. Menurut Margaritis dan Merchant (1984) senyawa dengan berat molekul yang rendah (BM lebih kecil dari 5000) dapat dengan mudah berdifusi pada manik alginat walaupun pada konsentrasi bahan penjerat yang relatif tinggi.

Gambar 1. Grafik penurunan pH media TGE cair selama fermentasi dengan menggunakan sel bebas dan sel amobil *Pediococcus acidilactici* F11

Ray (1992) menyatakan bahwa pediosin AcH diproduksi dalam jumlah besar setelah pertumbuhan sel telah mencapai fase

stasioner sebagai metabolit sekunder. Tingkat produksi pediosin AcH pada medium cair mencapai maksimum antara 16 sampai 22 jam

Amobilisasi Sel
(Ella Saparianti)

fermentasi, di atas 22 jam tingkat produksi pediosin AcH menurun (Ray dan Hoover, 1993). Biswas dkk (1991) menyatakan bahwa produksi pediosin AcH dipengaruhi oleh pH akhir dan harus pada kisaran pH 4,0.

Pada penelitian ini bila pH medium ada pada kisaran 5, pengujian substansi antimikrobia pada bakteri indikator Ly menunjukkan hasil yang negatif ditandai dengan tidak terbentuknya zone jernih. Zone jernih yang terbentuk dari substansi yang diperoleh pada jam ke-3 masih samar-samar, dimana pada saat tersebut dicapai pH akhir sekitar 4,8. Zone jernih semakin nyata bila dicapai pH pada kisaran 4,2 - 4,6. Baik sel bebas maupun sel amobil F11 akan menunjukkan hasil positif (bakteriosin) pada fermentasi jam ke-6 sampai jam ke-24, dimana diperoleh kisaran pH akhir 4,3 - 3,79. Hasil lengkap pengujian substansi antimikrobia tersaji pada Tabel 2.

Bakteriosin yang diuji pada penelitian ini merupakan bakteriosin kasar tanpa penetralan pH dan tidak dilakukan pemurnian. Bakteri indikator Ly merupakan bakteri asam laktat yang tahan terhadap kondisi asam tetapi sangat sensitif terhadap substansi antimikrobia (bakteriosin). Pertumbuhan bakteri indikator Ly akan terhambat bila di sekelilingnya terdapat bakteriosin. Penghambatan bakteriosin ditandai dengan munculnya zone jernih pada koloni bakteri Ly. Bakteri Ly ini merupakan strain bakteri terpilih yang dapat dipakai untuk pengujian substansi antimikrobia (Ray, 1992).

Sekalipun belum dapat dilihat pola produksi bakteriosin oleh sel amobil F11 secara kuantitatif, namun hasil penelitian sudah dapat menunjukkan kemampuan sel amobil dalam menghasilkan bakteriosin. Perbedaan densitas sel pada manik-manik tidak menunjukkan perbedaan yang sangat mencolok terhadap kemampuan sel amobil dalam menghasilkan

bakteriosin. Perbedaan hasil di antara manik sel amobil dan sel bebas terjadi pada jam ketiga. Secara keseluruhan semua manik sel amobil F11 yang dipakai pada penelitian ini mampu memberikan hasil uji yang positif terhadap keberadaan bakteriosin mulai pada jam keenam sampai jam ke dua puluh empat.

Kemampuan sel amobil F11 dalam menghasilkan bakteriosin maupun dalam menurunkan pH media sama dengan sel bebas. Aktivitas bakteriosin pada sel bebas maupun sel amobil F11 dipengaruhi oleh pH akhir media dan tidak dipengaruhi oleh densitas manik pada sel amobil.

KESIMPULAN

1. Sel *Pediococcus acidilactici* F11 yang mampu menghasilkan bakteriosin dapat dijerat pada matriks gel kalsium alginat. Masa sel F11 yang dipersiapkan untuk diamobilisasi pada gel kalsium alginat berhasil dijerat lebih dari 99%. Densitas sel pada manik-manik sel amobil F11 berkisar pada $1,4 \times 10^9 - 1,6 \times 10^{10}$ cfu/g manik.
2. Aktivitas sel amobil F11 dalam menghasilkan bakteriosin secara kualitatif sama dengan sel bebas F11. Sel amobil juga menunjukkan aktivitas yang sama dengan sel bebas dalam menurunkan pH media.

SARAN

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai profil pertumbuhan dan produksi bakteriosin dari sel bebas maupun sel amobil *Pediococcus acidilactici* F11.
2. Untuk keperluan optimasi produksi maka perlu pengukuran secara kuantitatif tingkat produksi bakteriosin oleh sel bebas maupun sel amobil *Pediococcus acidilactici* F11.

Tabel 2.
*Kemampuan sel amobil dan sel bebas *Pediococcus acidilactici* F11 dalam menghasilkan bakteriosin pada media TGE cair¹⁾*

Jam ke-	Sel bebas 2,5 x 10 ⁷ (cfu/ml media)		Sel amobil 3,6 x 10 ⁹ (cfu/g manik)		Sel amobil 3,8 x 10 ⁹ (cfu/g manik)		Sel amobil 8,5 x 10 ⁹ (cfu/g manik)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Uji coba	1	2	1	2	1	2	1	2
0	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	++	-	+	+	++	++	++
	-	++	-	+	+	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++
9	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++
12	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++
16	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++
20	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++
24	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++

¹⁾ Uji substansi antimikrobia secara kualitatif pada bakteri indikator Ly dengan metode overlay

- : tidak ada zone jernih; substansi antimikrobia tidak aktif

+ : ada zone jernih, substansi antimikrobia aktif

DAFTAR PUSTAKA

- Audet, P., C. Paquin dan C. Lacroix. 1989. Sugar Utilization and Acid Production by Free and Entrapped Cells of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in a Whey Permeate Medium. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 55(1):185-189.
- Biswas, S.R., P. Ray, M. C. Johnson dan B. Ray. 1991. Influence of Growth Conditions on the Production of a Bacteriocin, Pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici* H. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 57(4):1265-1267.
- Bucke, C. 1982. Industrial Uses of Immobilized Enzymes and Cells *di dalam* Flegel, T.W., V. Meevootisom, A. Bhumiratana dan P. Matangkasombut (Eds). *Immobilized Microbial Enzymes and Cells*. Proceedings of regional Workshop Mahidol University, Bangkok, Thailand, Dec. 13-17, 1982.
- Champagne, C.P., C. Lacroix dan I. Sondini-Gallot. 1994. Immobilized cell Technologies for the Dairy Industry *di dalam* Stewart, G. G. dan I. Russell (Eds). *Special Issue on Immobilized Cell Technology in Food Processing Crit. Rev. in Biotech.* Vol. 14/Issue 2. CRC. Press.
- Champagne, C. P., C. Gaudy, D. Poncelet dan R.J. Neufeld. 1992. Lactococcus lactis Release from Calcium Alginate Beads. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 58 (5):1429-1434
- Chenet, B.P., R.B. Gardener, D. D. stover (Eds). 1996. Industrial and Applied Microbiology, *Microbiology Abstracts* : section A. Vol. 31 No. 4 April 1996. Abstrak penelitian Wan, J., M. W. Hickey dan M. J. Conventry. Continuous production of bacteriocins,

Amobilisasi Sel
(Ella Saparianti)

- brevicin, nisin and pediocin, using calcium-alginate-immobilized bacteria.
- Chibata, I. 1978. Immobilized Enzymes. Kodansha Ltd., Japan.
- Groboillot, A., D. K. Boadi, D. Poncelet dan R. J. Neufeld. 1994. Immobilized cells for Application in the Food Industry *di dalam* Stewart, G. G. dan I. Russell (Eds). Special Issue on Immobilized Cell Technology in Food Processing Crit. Rev. in Biotech. Vol. 14/Issue 2. CRC. Press.
- Hoover, D. G. dan L. R. Steenson (Eds). 1993. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Academic Press, Inc. USA.
- Margaritis, A. dan F. J. A. Merchant. 1984. Advances in Ethanol Producing Using Immobilized cell System *di dalam* Stewart, G. G. dan I. Russell (Eds). Crit. Rev. in Biotech. Vol. 1/Issue 4, CRC Press.
- Morin, N., M. Bernier-Cardou, dan C. P. Champagne. 1992. Production of Concentrated *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* Suspension in Calcium Alginate Beads. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 58 (2) : 545-550.
- Passos, F. M. L. dan H. D. Swasgood. 1993. Development of Spiral Mesh Bioreactor with Immobilized Lactococci for Continuous Inoculation and Acidification of Milk. J. Dairy Sci. 76 : 2856 – 2867.
- Rahayu, E. S., Margino, S. dan B. Ray. 1997. Bakteri Asam Laktat : Isolasi dan Identifikasi. Materi Workshop, PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 13-14 Juni 1997.
- Ray, B. 1996. Characteristics and Applications of Pediocin (s) of *Pediococcus acidilactici* : Pediocin PA-1/AcH *di dalam* Ray, B. dan T.f. Bozoglu (Eds). Lactic Acid Bacteria : Advanced in Metabolism, Genetics and Application. Springer-verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Ray, B. dan Hoover. 1993. *Pediocins di dalam* Hoover, D. G. dan L. R. Steenson (Eds). 1993. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Academic Press, Inc. USA.
- Ray, B. 1992. Bacteriocins of Starter Culture Bacteria as Food Biopreservatives : An overview *di dalam* Ray, B. dan M. A. Daeschel (Eds). Food Biopreservatives of Microbial Origin. CRC Press., Mexico.
- Simpson, W. J. dan H. Taguchi. 1995. The genus *Pediococcus* with notes on the genera *Tetratogenococcus* and *Aerococcus* *di dalam* Wood, B. J. B. dan W.H. Holzapfel (Eds). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, London.
- Sodini-Gallot, I. G. Corrieu, C. Y. Boqien, E. Latrille dan C. Lacroix. 1995. Process Performance of Continuous Inoculation and Application of Milk with Immobilized Lactic Acid Bacteria. J. Dairy Sci. 78 : 1407 – 1420.
- Tampion, J. dan M. D. Tampion. 1987. Immobilized Cells : Principles and Applications. Cambridge University Press., Cambridge.