

ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI SAYUR KUBIS YANG MEMILIKI KEMAMPUAN PENGHAMBATAN BAKTERI PATOGEN (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, DAN *Salmonella thypimurium*)

Isolation of Lactic Acid Bacteria from Cabbage and Their Potensial Inhibition to Pathogenic Bacteria (Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, dan Salmonella thypimurium)

Kristian Purwohadisantoso, Elok Zubaidah*, dan Ella Saparianti

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fak. Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya
Jl. Veteran - Malang

*Penulis korespondensi, email: elzoeba@yahoo.com

ABSTRACT

Today, the growth of food industries has encouraged significant role of lactic acid bacteria for food processing such as for producing antibacterial agent. Cabbage is one of lactic acid bacteria sources. However, the pathogenic bacterial inhibition capability of lactic acid bacteria isolated from cabbage is still unknown. Also its ability to produce bacteriocin has not been elucidated. This research is aimed to isolate and to confirm lactic acid bacteria from cabbage, as well as to study their ability to inhibit certain pathogenic bacteria.

*The results showed that there were 8 lactic acid bacteria isolates with characteristics as follow: the morphology was round, white color, and classified as positive gram bacteria, negative catalase test, not capable to produce gas. They were supposed as homofermentative lactic acid bacteria. All of isolates could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium*. K512 isolate had the highest capability to inhibit the growth of *Escherichia coli* (inhibition diameter of 11.53 mm) and *Salmonella typhimurium* (inhibition diameter of 11.60 mm). K45 isolate had the highest ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* (inhibition diameter of 10.53 mm). K41 isolate had the growth inhibition capability to *Listeria monocytogenes* (inhibition diameter of 11.67 mm). Bacteriocin producing test showed that all of the isolates had no growth inhibition to four tested pathogenic bacteria.*

Keywords: isolation, lactic acid bacteria, antimicrobial activity, bacteriocin

PENDAHULUAN

Salah satu mikroba yang berperan dalam dunia pangan adalah bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat dapat menghasilkan asam-asam organik, seperti asam laktat, asam asetat, dan asam propionat yang bersifat sebagai antimikroba karena dapat menurunkan pH sehingga berfungsi sebagai pengawet alami (*biopreservative*) (Yang, 2000). Keuntungan penggunaan bakteri asam

laktat menurut De Vuyst *and* Vandamme (1994) adalah pertumbuhannya mampu mencegah pembusukan dan kontaminasi oleh mikroba lain serta dapat memproduksi bakteriosin, non patogenik, tidak membentuk toksin, mikroaerofilik, dan aerotoleran sehingga membutuhkan proses fermentasi yang sederhana serta dapat tumbuh dengan cepat.

Koleksi bakteri asam laktat yang diisolasi dari sumber dalam negeri masih belum banyak, sehingga diperlukan

eksplorasi bakteri asam laktat untuk meningkatkan koleksi isolat bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dengan memanfaatkan sumber-sumber yang mengandung bakteri asam laktat.

Salah satu sumber yang dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri asam laktat adalah kubis. Menurut Bushway (1999), spesies bakteri asam laktat yang terdapat pada kubis adalah *Lactococcus* dan *Leuconostoc* serta sejumlah kecil spesies *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Misgiyarta dan Widowati (2006) telah mengisolasi bakteri asam laktat dari kubis busuk sebanyak 11 isolat bakteri asam laktat

Salah satu hal penting yang menyebabkan bakteri asam laktat dapat berperan dalam dunia pangan adalah kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Efek antimikrob dari bakteri asam laktat disebabkan oleh produksi asam organik. Bakteri asam laktat juga menghasilkan berbagai komponen antibakteri lainnya seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), karbondioksida (CO_2), diasetil, dan bakteriosin (Yang, 2000).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui kemampuan penghambatan terhadap beberapa bakteri patogen dan kemampuannya dalam memproduksi bakteriosin.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan adalah isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis, kultur bakteri patogen indikator yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella typhimurium* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya. Media mikrobiologi de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) dan Nutrient Agar (NA) serta

Nutrient Broth (NB), serta reagensia kimia.

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama adalah isolasi bakteri asam laktat yang berasal dari sayur kubis. Tahap kedua adalah konfirmasi isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari sayur kubis berdasarkan pengamatan morfologi bakteri, uji gram, serta uji karakteristik biokimia. Uji gram dilakukan dengan pewarnaan dan reaksi dengan KOH. Uji karakteristitik biokimia meliputi uji katalase, uji pembentukan gas, dan uji kecepatan pengasaman. Tahap ketiga adalah uji penghambatan terhadap bakteri patogen yang meliputi aktivitas antimikrob dan bakteriosin.

Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Sayur Kubis

Sayur kubis diambil secara aseptif sebanyak 5 g, dimasukkan kedalam plastik steril yang berisi 45 ml larutan NaCl 0,85% steril kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan *stomacher* pada kecepatan tinggi selama 3 menit. Homogenat dibuat seri pengenceran (10^{-2} sampai 10^{-5}) dalam larutan NaCl 0,85% steril. Masing-masing seri pengenceran diambil 0,1 ml kemudian diinokulasikan pada media MRSA dengan teknik *pour plate*. Inkubasi dilakukan pada suhu $37^{\circ}C$ selama 48 jam. Koloni yang diduga BAL (warna putih, kecil, dan tepian jelas) selanjutnya dipindahkan ke media padat MRSA, untuk selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi.

Persiapan dan Pengawetan Kultur

Isolat bakteri asam laktat yang telah murni diremajakan dan diperbanyak dengan cara mengambil satu ose untuk ditumbuhkan dalam 10 ml MRSB, kemudian diinkubasi pada $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Isolat bakteri asam laktat dibuat stok kultur dengan cara mengambil 1 ose dari hasil biakan pada MRSB dan ditumbuhkan pada 5 ml media MRSA

padat dengan posisi miring, dan 10 ml media MRSA padat posisi tegak, diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, kemudian disimpan pada suhu refrigerator 4⁰C dan setiap satu bulan diremajakan kembali.

Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel Mikrob (Benson, 2002)

Pengamatan morfologi koloni mikrob berdasarkan pada bentuk bentuk, tepian dan warna koloni yang diduga dari jenis bakteri asam laktat. Pengamatan bentuk sel berdasarkan pengamatan mikroskopis pada perbesaran 1000x.

Pewarnaan Gram (Cappuccino and Sherman, 1983)

Pewarnaan dilakukan dengan membuat bekas isolat di gelas obyek, kemudian diwarnai dengan larutan kristal violet dan yodium secara bergantian selama beberapa menit dan dicuci dengan aquades, selanjutnya dicuci dengan alkohol dan ditetesi dengan larutan cat penutup safranin. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop, bakteri Gram positif akan nampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah.

Uji Gram (Abegaz, 2007)

Isolat mikrob dari tiap media berbeda diinokulasikan 1 ose kedalam medium cair steril, inkubasi suhu ruang selama 24 jam kemudian diambil 1 ose dan digoreskan pada gelas objek steril setelah itu ditetaskan 1 tetes larutan KOH 3% diatas isolat dan dilakukan penggoresan menggunakan tusuk gigi. Mikrob yang termasuk Gram positif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya lendir pada spot mikrob pada gelas objek.

Uji Katalase (Lay, 1994 dalam Misgiyarta dan Widowati, 2003)

Isolat dari agar miring diambil satu ose, kemudian dioleskan pada gelas benda yang telah diberi alkohol. Gelas benda ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%.

Diamati terbentuknya gelembung gas pada preparat. Jika terdapat gelembung gas berarti uji katalase tersebut positif

Uji Produksi Gas (modifikasi Reque *et al.*, 2000)

Uji produksi gas dilakukan untuk mengetahui apakah isolat yang diuji dapat memecah glukosa dalam media dan menghasilkan gas. Tabung Durham dengan posisi terbalik dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi MRSB. Kemudian media ini diinokulasi dengan 1% inokulum (sebelumnya ditumbuhkan dalam MRSB dan telah berumur 24 jam), diinkubasi pada suhu 37⁰C dan diamati setiap 3 jam selama 24 jam. Adanya gas yang terperangkap dalam tabung Durham menunjukkan bahwa isolat tersebut menghasilkan gas.

Uji Kecepatan Pengasaman (modifikasi Ayad *et al.*, 2004)

Sebanyak 25 ml MRSB diinokulasi dengan 2% inokulum (yang sebelumnya ditumbuhkan dalam MRSB dan berumur 24 jam), kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C. Besarnya pH media diukur dengan pH meter pada jam ke-0, 3, 6, 9, dan 12. Keasaman ditunjukkan dengan penurunan pH media, sedangkan kecepatan pengasaman ditunjukkan oleh perbedaan nilai pH pada jam ke-0, 3, 6, 9, dan 12.

Uji Aktivitas Antimikrob (modifikasi Wolf and Gibbon, 1996)

Pengujian aktivitas antimikrob terhadap bakteri patogen dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. *Nutrient Agar* (NA) yang telah disterilisasi didinginkan sampai suhu 45⁰C. Kultur masing-masing bakteri patogen indikator yang berumur 24 jam dimasukkan kedalam NA sebanyak 40 µl untuk setiap 20 ml NA. Selanjutnya dibuat agar cawan dengan ketebalan dengan ketebalan 4-5 mm. Dibuat 4 sumur pada agar tersebut dengan diameter 5 mm. Kemudian kedalam masing-masing sumur dimasukkan 30 µl kultur BAL (sebelumnya ditumbuhkan

dalam MRSB, dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 12 jam). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam dengan posisi cawan keatas. Diamati adanya penghambatan dan diukur diameter penghambatan dalam mm menggunakan alat ukur mikrometer.

Uji Aktivitas Bakteriosin (Modifikasi Morisset *et al.*, 2004)

Supernatan yang mengandung kultur BAL (sebelumnya di tumbuhkan dalam MRSB, dan diinkubasi pada suhu 30⁰C selama 18 jam) disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 x *g* selama 10 menit pada 4⁰C. Penetralkan dengan NaOH 5 N hingga mencapai pH 6,0 bertujuan untuk menghilangkan efek antimikrob dari asam organik, kemudian dilakukan pemanasan dengan waterbath pada suhu 65⁰C selama 30 menit, dan disimpan dalam suhu 4⁰C hingga digunakan. 30 µl supernatan netral dimasukkan kedalam sumur (diameter 5 mm) dari cawan NA yang telah diinokulasi dengan 40 µl kultur bakteri patogen indikator berumur 24 jam. Cawan tersebut disimpan dalam suhu 4±1⁰C selama 2 jam sebelum diinkubasi pada 30⁰C selama 12 jam kemudian dilakukan pengukuran diameter zona penghambatan.

Analisis Data

Hasil yang diperoleh dari berbagai pengujian akan dianalisis secara deskriptif dan dipilih isolat terbaik dengan metode ranking (Tabucanon, 1988).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Kubis

Isolasi bakteri asam laktat dari sayur kubis dilakukan dengan mengisolasi mikrob yang tumbuh dari seri pengenceran 10⁻⁴ dan 10⁻⁵ dan diperoleh 36 isolat. Bakteri yang diisolasi memiliki ciri koloni berwarna putih berbentuk bulat. Dari 36 isolat awal, 16 isolat tidak mampu tumbuh pada saat pemurnian dan

12 isolat mengalami kontaminasi. Setelah melalui tahap pemurnian diperoleh 8 isolat murni bakteri asam laktat.

Konfirmasi Isolat dari Sayur Kubis

Uji konfirmasi yang dilakukan pada ke-8 isolat berdasarkan karakteristik kunci dari *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Uji konfirmasi yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni, pewarnaan gram dan uji gram, uji produksi gas, uji katalase serta uji kecepatan pengasaman.

Pengamatan Morfologi Koloni

Pengamatan morfologi koloni dari 8 isolat bakteri asam laktat berdasarkan bentuk, warna dan tepian. Kedelapan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis semuanya berbentuk bulat dengan warna putih dan tepian jelas (Tabel 1).

Tabel 1. Pengamatan morfologi koloni

Isolat	Pengamatan Morfologi Koloni		
	Bentuk	Warna	Tepian
K41	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K45	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K46	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K55	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K56	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K511	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K512	Bulat	Putih	<i>Entire</i>
K516	Bulat	Putih	<i>Entire</i>

Pewarnaan Gram dan Uji Gram

Hasil pengamatan 8 isolat bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari sayur kubis menunjukkan bahwa semua isolat berbentuk coccus dan berwarna ungu (Tabel 2). Capucinno dan Sherman (1983) menyatakan bahwa isolat yang menunjukkan warna ungu saat diamati dibawah mikroskop termasuk pada golongan gram positif.

Hasil pewarnaan gram diperkuat dengan melakukan uji gram pada 8 isolat murni bakteri asam laktat dari sayur kubis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 8 isolat bakteri termasuk bakteri gram positif. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya lendir saat direaksikan dengan larutan KOH 3%.

Tidak terbentuknya lendir pada bakteri gram positif karena dinding sel bakteri gram positif lebih resisten terhadap KOH sehingga dinding sel tidak pecah. Kuatnya dinding sel ini yang membuat DNA tetap berada di dalam sel. Menurut Shivas dan Beasley, (2005) dinding sel bakteri gram negatif lebih sensitif dan tidak memiliki ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH. Sehingga apabila sel bakteri gram negatif direaksikan dengan larutan KOH akan menyebabkan dinding sel bakteri pecah dan terjadi lisis dan DNA dibebaskan. DNA bersifat sangat kental di dalam air, maka terbentuklah benang lendir.

Tabel 2. Pengujian gram

Isolat	Pengujian gram		
	Pewarnaan	Reaksi KOH	Kesimpulan Gram
K41	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K45	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K46	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K55	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K56	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K511	Ungu	Tidak terbentuk lendar	Positif
K512	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif
K516	Ungu	Tidak terbentuk lendir	Positif

Uji Produksi Gas dan Uji Katalase

Hasil uji produksi gas terhadap 8 isolat asal sayur kubis menunjukkan hasil negatif (Tabel 3). Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gas yang terperangkap di dalam tabung Durham. Menurut Jay (1992), bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat, karbondioksida dan etanol dari fermentasi heksosa termasuk dalam kelompok heterofermentatif sedangkan bakteri asam laktat yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dari fermentasi glukosa disebut homofermentatif. Berdasarkan hasil uji produksi gas terhadap kedelapan isolat

bakteri asam laktat dari sayur kubis yang menunjukkan semua isolat tidak menghasilkan gas pada tabung Durham maka dapat disimpulkan bahwa kedelapan isolat tersebut merupakan bakteri asam laktat homofermentatif.

Tabel 3. Uji produksi gas dan uji katalase

Isolat	Produksi gas	Katalase
K41	negatif	negatif
K45	negatif	negatif
K46	negatif	negatif
K55	negatif	negatif
K56	negatif	negatif
K511	negatif	negatif
K512	negatif	negatif
K516	negatif	negatif

Pada uji katalase diamati terbentuknya gelembung oksigen pada isolat setelah penetesan larutan Hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Apabila terbentuk gelembung oksigen maka isolat tersebut mampu menghasilkan enzim katalase. Hasil uji terhadap 8 isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis adalah tidak terbentuknya oksigen setelah penetesan larutan Hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Berdasarkan hal tersebut maka 8 isolat tersebut tidak menghasilkan enzim katalase. Hal ini sesuai dengan Adams *and* Nout (2001) yang menyatakan bahwa genus bakteri asam laktat termasuk dalam katalase negatif.

Uji Kecepatan Pengasaman

Bakteri asam laktat dapat menghasilkan asam laktat yang dapat mempengaruhi lingkungannya. Uji kecepatan pengasaman dilakukan untuk melihat kemampuan kecepatan isolat dalam menghasilkan asam sehingga dapat menurunkan pH media. pH diukur pada jam ke 0, 3, 6, 9 dan 12. Apabila penurunan pH sebesar 0,4 unit tercapai sebelum 3 jam maka isolat tersebut memiliki aktivitas pengasaman yang cepat. Apabila lebih dari 5 jam termasuk lambat (Ayad *et al.*, 2004).

Pada uji kecepatan pengasaman, kedelapan isolat tersebut memiliki kecepatan pengasaman yang lambat (Tabel 4). Menurut Ayad *et al.* (2004) kecepatan pengasaman genus *lactococci*, *enterococci*, dan *lactobacilli* tergolong lambat.

Tabel 4. Uji kecepatan pengasaman

Isolat	Δ pH03	Δ pH06	Kesimpulan
K41	0,15	1,1	Lambat
K45	0,1	0,6	Lambat
K46	0,3	1,0	Lambat
K55	0,1	0,8	Lambat
K56	0,2	1,3	Lambat
K511	0,25	1,45	Lambat
K512	0,15	0,3	Lambat
K516	0,25	1,4	Lambat

Uji Penghambatan terhadap Bakteri Patogen

a. Uji Antimikrob

Metode yang digunakan dalam uji antimikrob adalah metode difusi agar dimana aktivitas penghambatan oleh isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen ditunjukkan dengan diameter zona bening yang terbentuk. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin besar aktivitas penghambatan isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen.

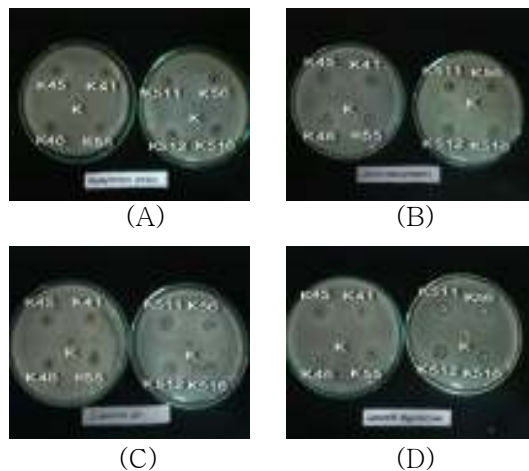
Tabel 5. Diameter penghambatan delapan isolat asal sayur kubis terhadap bakteri patogen

Isolat	S. aureus (mm)	L. monocytogenes (mm)	E. coli (mm)	S. typhimurium (mm)
K41	9,40	11,67	5,67	9,87
K45	10,53	5,53	7,33	11,27
K46	8,80	7,33	6,53	8,33
K55	9,47	7,53	8,07	11,13
K56	9,93	9,67	10,87	8,73
K511	7,80	8,60	8,47	11,20
K512	8,73	8,00	11,53	11,60
K516	7,73	6,47	10,93	11,53

Pada pengujian antimikrob ini digunakan empat bakteri patogen yaitu

Staphylococcus aureus, *Eschericia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella typhimurium*. Pemilihan bakteri uji ini mewakili bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*) dan gram negatif (*Eschericia coli* dan *Salmonella typhimurium*). Pada Tabel 5. disajikan diameter penghambatan delapan isolat asal sayur kubis terhadap bakteri patogen.

Isolat K512 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Eschericia coli* dengan diameter penghambatan 11,53 mm. Isolat K512 juga merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap *Salmonella typhimurium* dengan diameter penghambatan 11,60 mm. Isolat K45 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dengan diameter penghambatan 10,53 mm. Isolat K41 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap bakteri patogen *Listeria monocytogenes* dengan diameter penghambatan 11,67 mm (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil pengamatan uji antimikrob terhadap *S.aureus* (A), *L. monocytogenes* (B), *S. typhimurium* (C) dan *E. coli* (D)

Pada uji antimikrob ini, aktivitas penghambatan kedelapan isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri Gram

positif yang diwakili *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap senyawa antimikrob yang dihasilkan kedelapan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis. Hal ini ditandai dengan rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* lebih tinggi dari *Listeria monocytogenes*.

Penghambatan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis terhadap *Salmonella typhimurium* secara umum lebih tinggi dari ketiga bakteri patogen lainnya. Hal ini ditandai dengan rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan oleh *Salmonella typhimurium* lebih tinggi dari ketiga bakteri patogen lainnya. Tingginya diameter penghambatan menunjukkan bahwa *Salmonella typhimurium* sensitif terhadap senyawa anti-mikrob yang dihasilkan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis.

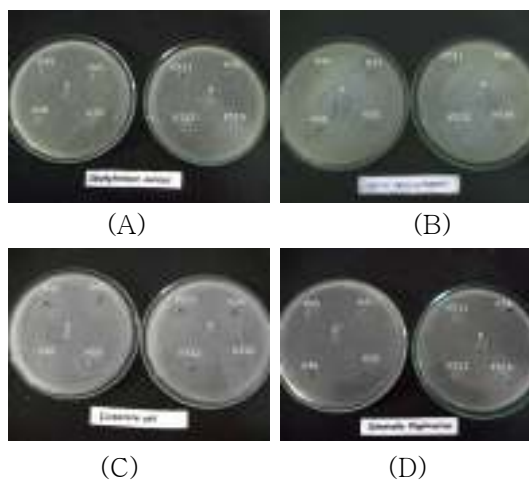
Dalam hal ini penghambatan dapat terjadi karena senyawa antimikrobia yang dihasilkan dapat menembus membran terluar dari bakteri Gram negatif. Menurut Alakomi *et al.* (2006) membran terluar dari bakteri gram negatif bertindak sebagai pelindung dengan adanya lipopolisakarida yang menyebabkan resistensi sel dari berbagai macam zat, namun membran terluar dari bakteri gram negatif ini masih mungkin dapat ditembus oleh senyawa lain yang disebut *permeabilizer* yang dapat menghancurkan lapisan lipopolisakarida dan meningkatkan permeabilitas membran terluar bakteri gram negatif. Salah satu zat yang dapat menembus periplasma membran terluar dari bakteri gram negatif adalah asam laktat.

Penghambatan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis terhadap *Listeria monocytogenes* secara umum lebih rendah dari ketiga bakteri patogen lainnya Hal ini ditandai dengan rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan oleh *Listeria monocytogenes* paling

rendah daripada ketiga bakteri patogen lainnya. Hal ini mungkin dikarenakan ketahanan *Listeria monocytogenes* pada asam laktat yang dihasilkan oleh kedelapan isolat tersebut. Menurut Yang (2000), *Listeria monocytogenes* memiliki sensitivitas terhadap asam laktat lebih kecil daripada asam asetat. Kusumawati (2006) menyatakan bahwa dari beberapa penelitian, ditunjukkan bahwa asam asetat lebih potensial sebagai antilisteria dibandingkan asam laktat.

b. Uji Potensi Bakteriosin

Kedelapan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis yang sebelumnya telah diuji kemampuannya dalam menghambat bakteri patogen, kini diuji lebih lanjut kemampuan penghambatan terhadap bakteri patogen yang disebabkan oleh bakteriosin. Pada penelitian ini pada kedelapan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis tidak ditemukan zona bening disekitar sumuran (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil uji potensi bakteriosin terhadap *S.aureus* (A), *L. monocytogenes* (B), *S. typhimurium* (C) dan *E. coli* (D)

Hasil negatif uji potensi bakteriosin 8 isolat asal sayur kubis dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, kedelapan isolat tersebut memang tidak menghasilkan bakteriosin. Kedua, bakteri patogen indikator yang digunakan terlalu jauh kekerabatannya. Menurut De Vuyst and Vandamme (1994), bakteriosin yang

dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat berupa protein atau kompleks protein yang aktif secara hayati berpengaruh bakterisidal khususnya terhadap bakteri gram positif dan yang berkerabat dekat dengan spesies bakteri penghasilnya.

Ketiga, faktor lingkungan pertumbuhan yang kurang optimum sehingga aktivitas bakteriosin yang dihasilkan akan rendah dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Todorov and Dicks (2005), produksi bakteriosin dipengaruhi oleh pH dan temperatur, bahkan pada beberapa kasus, aktivitas bakteriosin tertinggi terjadi saat bakteri berada pada kondisi suboptimum pertumbuhan.

Pemilihan Isolat Terbaik

Tabel 6 menunjukkan bahwa isolat K512 merupakan isolat dengan kemampuan penghambatan yang paling tinggi dibandingkan ketujuh isolat lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Eschericia coli* dan *Salmonella typhimurium*, namun kemampuan penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* rendah.

Tabel 6. Peringkat isolat asal sayur kubis pada uji antimikrob

Peringkat	Ui Antimikrob			
	<i>S. aureus</i>	<i>L. mono-cytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
1	K45	K41	K512	K512
2	K56	K56	K516	K516
3	K55	K511	K56	K45
4	K41	K512	K511	K511
5	K46	K55	K55	K55
6	K512	K46	K45	K41
7	K511	K516	K46	K56
8	K516	K45	K41	K46

Isolat K45 merupakan isolat dengan kemampuan penghambatan yang paling tinggi dibandingkan ketujuh isolat lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* namun kemampuan penghambatan terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Eschericia*

coli rendah. Isolat K41 merupakan isolat dengan kemampuan penghambatan yang paling tinggi dibandingkan ketujuh isolat lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Listeria monocytogenes* namun kemampuan penghambatan terhadap ketiga bakteri patogen lainnya rendah.

KESIMPULAN

Hasil isolasi mikrob asal sayur kubis menghasilkan 8 isolat yang merupakan bakteri asam laktat yaitu K41, K45, K46, K55, K56, K511, K512, K516. Kedelapan isolat memiliki ciri-ciri morfologi bentuk bulat dengan warna putih susu, termasuk bakteri Gram positif, katalase negatif, tidak memproduksi gas sehingga diduga bersifat homofermentatif

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antimikrob dapat diketahui bahwa seluruh isolat asal sayur kubis dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella typhimurium*. Isolat K512 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Eschericia coli* dengan diameter penghambatan 11,53 mm. Isolat K512 juga merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap *Salmonella typhimurium* dengan diameter penghambatan 11,60 mm.

Isolat K45 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dengan diameter penghambatan 10,53 mm. Isolat K41 merupakan isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tinggi terhadap bakteri patogen *Listeria monocytogenes* dengan diameter penghambatan 11,67 mm. Pada uji potensi bakteriosin, kedelapan isolat bakteri asam laktat asal sayur kubis tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan empat bakteri patogen indikator.

DAFTAR PUSTAKA

- Abegaz, K. 2007. Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria involved in traditional fermentation of borde an Ethiopian cereal beverages. *African Journal of Biotechnology*. 6(12): 1469-1478
- Adams, M.R, and M.J.R. Nout (Ed.). 2001. *Fermentation and Food Safety*. Aspen Publishers. Maryland. pp. 42, 45
- Adam, M. R. and Moss, M. O. 2000. *Food Microbiology*. Second Edition. The Royal Society of Chemistry, United Kingdom
- Alakomi, H.L., A.Paanaen, M.L. Suihko, I.M. Helander, and M. Saarela. 2006. Weaking effect of cell permeabilizer on gram negative bacteria causing biodeterioration. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 72(7): 4695-4703
- Ayad, E.H.E, S. Nashat, N. El-Sadek, H.Metwaly, and M. El-Soda. 2004. Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology*. 21: 715-725
- Benson, H. 2003. *Microbiology Application Laboratory manual 11 General Microbiologi*. 8th Edition . Mc Graw Hill, Boston
- Cappuccino, J.G., and N. Sherman. 1983. *Microbiology a Laboratory Manual*. Advison-Wesley Pub. Comp. Inc., USA
- De Vuyst. L dan E.J Vandamme. 1994. *Bacteriocin of Lactic Acid Bacteria Microbiology, Genetic and Applications*. Blackie Academic & Professional, London
- Jay, J. M. 1992. *Modern Food Microbiology*. Chapman and Hall Book. New York
- Kusumawati, R. 2006. Evaluasi Potensi Probiotik Isolat BAL Indigenus Asal Bekatul Secara In Vitro. Skripsi. Univ. Brawijaya. Malang. Hal. 29
- Misgiyarta dan S. Widowati. 2006. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
- Morisset, D., J-M. Berjeaud, D. Marion, C. Lacombe, and J. Frere. 2004. Mutational analysis of mesentericin Y105, an anti-listeria bacteriocin, for determination of impact on bactericidal activity, in vitro secondary structure, and membrane interaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(8): 4672-4680
- Pelczar, M. C., E. C. S Chan dan N. R. Krieg. 1993. *Microbiology Concepts and Applications*. Mc. Graw Hill, Inc., New York
- Reque, E. de F, A. Pandey, S.G. Franco, and C.R. Soccol. 2000. Isolation, identification and physiological study of *L. fermentum* Lpb for use as probiotic in chicken. *Braz. J. Microbiol.* 31: 303-307
- Shivas, R dan Beasley, D. 2005. *Pengelolaan Koleksi Patogen Tanaman*. Departemen Pertanian, Perikanan dan Kehutanan Pemerintah Australia (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, DAFF). <http://daff.gov.au>
- Tabucanon, M. 1988. *Multiple Criteria Decision Making In Industry*. Elsevier Science Publisher, New York
- Todorov, S.D and L. M. I Dicks. 2005. Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a strain isolated from boza. *Journal Food Technology Biotechnology*. 43(2): 165-173
- Widowati, E. 2005. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari KUD di Kabupaten Tulung Agung yang Berpotensi sebagai Probiotik. Skripsi Jurusan Biologi. FMIPA-UB. Malang
- Wolf, C.E. and R. Gibbons. 1996. Improved method for qualification of bacteriocins nisin. *J. Appl. Bacteriol.* 80: 463
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial component and extracellular polysachcaride produce by lactic acid bacteria: structure and properties. Dept. Of Food Technology. University Helsinki, Helsinki

