

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATE FROM TRADITIONAL FERMENTED FOOD PEKASAM FROM SAMBAS REGENCY KALIMANTAN BARAT

Uray Qiera Zelia Azzahra^{1*}, Maherawati¹, Dzul Fadly¹

¹ Prodi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Tanjungpura, Indonesia

*Korespondensi : urayqiera26@gmail.com

ABSTRACT

Background: Pekasam is a fermented product made from fish through a salting process with the addition of rice and incubated in a closed container for 4-10 days. The dominant bacteria that grow in pekasam are lactic acid bacteria. LAB have the potential to produce antimicrobial compounds that can inhibit the growth of pathogenic bacteria.

Objectives: The aim of this study is to isolate LAB from pekasam and determine its antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: This study used a descriptive method with parameters such as total LAB colonies, microscopic and macroscopic morphology, and LAB antimicrobial activity

Results: Total LAB colonies in this study ranged from $8,13 \times 10^5$ – $2,20 \times 10^7$ CFU/mL. The result of morphological identification showed that 32 isolates were bacilli and 1 were cocci with round-shape, flat edges, convex elevation, white and white-yellowish colors, and Gram positive. Based on antimicrobial activity, the highest (2,78 mm) inhibition zone was found in sample SB1 against *Bacillus subtilis* and the lowest (1,62 mm) was found in sample SB2 against *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion: The antimicrobial activity of all LAB isolates was categorized as weak because the inhibition zone was <5 mm.

Keywords: Antimicrobial; lactic acid bacteria; pekasam; pathogen

ABSTRAK

Latar belakang: Pekasam adalah produk fermentasi ikan yang dibuat melalui proses penambahan nasi dan penggaraman, kemudian diinkubasi di dalam wadah tertutup selama 4-10 hari. Proses pembuatan pekasam melibatkan BAL. BAL berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dari pekasam dan mengetahui aktivitas antimikrobanya terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan parameter yang diamati meliputi total koloni BAL, morfologi koloni dan sel BAL, serta aktivitas antimikroba BAL.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan total BAL berkisar antara $8,13 \times 10^5$ – $2,20 \times 10^7$ CFU/mL. Hasil uji morfologi menunjukkan sebanyak 32 isolat BAL berbentuk basil dan 1 isolat berbentuk kokus dengan karakteristik bulat, tepian rata, elevasi cembung, berwarna putih susu dan putih kekuningan, serta Gram positif. Zona hambat tertinggi (2,78 mm) terdapat pada sampel SB1 terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan zona hambat terendah (1,62 mm) terdapat pada sampel SB2 terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Simpulan: Aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen tergolong dalam kategori lemah karena diameter zona hambat yang dihasilkan <5 mm.

Kata Kunci: Antimikroba; bakteri asam laktat; pekasam; patogen

PENDAHULUAN

Pekasam atau “bekasam” adalah produk fermentasi ikan yang banyak dijumpai di daerah Sumatera dan Kalimantan. Pekasam adalah produk fermentasi ikan yang dibuat secara tradisional dengan penambahan nasi serta garam dan diinkubasi di dalam wadah tertutup selama 4-10 hari. Penambahan nasi berfungsi sebagai sumber karbon, sedangkan penambahan garam berfungsi untuk menyeleksi bakteri yang tumbuh pada pekasam

selama fermentasi berlangsung.¹ Proses fermentasi pekasam melibatkan bakteri asam laktat (BAL) melalui fermentasi spontan.

BAL mempunyai peranan penting dalam proses fermentasi karena dapat mencegah pembusukan dan mengawetkan produk pangan. BAL akan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat sehingga menciptakan situasi asam yang tidak mendukung bagi pertumbuhan mikroorganisme patogen selama proses fermentasi berlangsung.²

BAL termasuk dalam kelompok *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sehingga aman untuk dikonsumsi.³ BAL memproduksi senyawa metabolit yang berperan sebagai antimikroba seperti bakteriosin, hidrogen peroksida, reutrin, diasetil, asam asetat, propionat, dan butirir.⁴

Penelitian Choesri *et al.* menunjukkan bahwa asam organik yang dihasilkan BAL dari pekasam berpotensi sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*.⁵ Sari *et al.* melaporkan bahwa isolat BAL yang diperoleh dari bekasam dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella sp.*⁶ Sementara itu, Nurnaafi *et al.* membuktikan bahwa isolat BAL yang diisolasi dari bekasam ikan nila mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.⁷

Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji potensi BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Meskipun demikian, informasi mengenai pekasam sebagai sumber antimikroba terutama di daerah Kalimantan Barat masih sangat terbatas sehingga perlu dikaji lebih dalam. Penelitian ini menggunakan lima bakteri patogen sebagai indikator, yaitu *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi BAL dari pekasam serta menguji potensinya sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen.

METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel pekasam yang diperoleh dari tiga desa di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Bahan kimia yang digunakan untuk analisa meliputi akuades, NaCl (Merck), MRS Broth (HIMEDIA), MRS Agar (HIMEDIA), CaCO₃ (Merck), natrium azida (Merck), *Mueller-Hinton Broth* (HIMEDIA), pewarna Gram (IndoReagen), *amoxicillin* (Hexpharm), alkohol 70% (Onemed), spiritus, serta kultur bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*), UGM, Yogyakarta.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri (Anumbra), tabung reaksi (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), gelas beaker (Iwaki), erlenmeyer (Iwaki), mikropipet (Joanlab), tip (Onemed), kaca objek (Sail Brand), minyak imersi (Merck), autoklaf (TOMY ES-315), inkubator (Memmert INB200), *microwave* (Sharp), mikroskop (Nikon Eclipse E100-LED), timbangan analitik

(Ohaus), shaker (DLAB SK-0330-Pro), lemari pendingin (Sharp), *hotplate* (C-MAG HP 10 IKA), dan oven (Memmert UN-30).

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu pengambilan sampel, isolasi dan pemurnian isolat BAL, perhitungan total koloni BAL, morfologi BAL, serta aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap bakteri patogen.

Pengambilan Sampel

Sampel pekasam diambil dari 3 produsen yang berada di Desa Dalam Kaum, Desa Mensemat, dan Desa Kampung Dagang, Kecamatan Sambas, Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Saat pengambilan sampel dilakukan wawancara dengan produsen terkait proses pembuatan pekasam secara rinci. Masing-masing sampel diberi label, dimasukkan dalam *ice box* selama transportasi, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisis lebih lanjut.

Isolasi dan Pemurnian BAL

Isolasi BAL dilakukan dengan mengencerkan 1 g sampel pekasam ke dalam larutan NaCl 0,85% steril. Pengenceran serial dilakukan sebanyak 5 kali dimulai dari pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁵. Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran dituang ke dalam cawan petri yang berisi media MRSA, CaCO₃, NaCl, dan Natrium Azida. Setiap pengenceran dilakukan 3 kali ulangan. Isolat ditumbuhkan pada suhu 37°C selama 48 jam di dalam inkubator. Selanjutnya, dilakukan perhitungan jumlah koloni BAL dengan kriteria cawan petri berisi 25-250 koloni. Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali menggunakan metode gores pada media MRSA. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator.⁸

Karakterisasi Isolat BAL

Karakterisasi morfologi isolat BAL dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri yang tumbuh. Proses ini dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan melihat langsung isolat yang tumbuh pada media agar meliputi bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, dan warna koloni. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan pengecatan Gram dan diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 100 kali.⁹

Pembuatan Kultur BAL

Isolat BAL yang sudah diremajakan diambil sebanyak satu ose lalu diinokulasikan ke dalam 10 mL media MRSB pada tabung reaksi. Selanjutnya, tabung reaksi *dishaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam.¹⁰

Pembuatan Kultur Bakteri Patogen

Kultur bakteri patogen dibuat dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri patogen lalu diinokulasikan ke dalam 10 mL media MHB pada tabung reaksi. Selanjutnya, tabung reaksi *dishaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam.¹¹

Pembuatan Larutan Antibiotik

Pembuatan larutan amoksisilin dilakukan dengan melarutkan 500 mg tablet amoksisilin dalam 5 mL akuades steril (konsentrasi 100 mg/mL). Selanjutnya, larutan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL yang akan dijadikan sebagai larutan stok.⁸

Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba BAL dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Bakteri patogen yang digunakan meliputi *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Sebanyak 1 mL kultur bakteri patogen diinokulasikan pada media MHA lalu

dihomogenkan. Tuangkan media ke dalam cawan petri dan diamkan hingga memadat. Selanjutnya, kertas cakram yang telah direndam dalam kultur BAL diletakkan pada permukaan media secara aseptik. Lakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian, inkubasi seluruh cawan petri selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona hambat berupa daerah jernih yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Amati zona hambat dan ukur menggunakan jangka sorong.¹²

HASIL

Isolasi dan Total Koloni BAL

Hasil perhitungan total BAL pada pekasam asal Kabupaten Sambas dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa total BAL pada sampel pekasam asal Kabupaten Sambas adalah sebesar $8,13 \times 10^5 - 2,20 \times 10^7$ CFU/mL. Isolasi BAL bertujuan untuk mendapatkan biakan murni BAL dari sampel pekasam asal Kabupaten Sambas.

Tabel 1. Jumlah Total BAL Pekasam

Nama Sampel	Jumlah BAL (CFU/mL)
SB1	$1,89 \times 10^7$
SB2	$8,13 \times 10^5$
SB3	$2,20 \times 10^7$

Keterangan: SB1 = Sampel Pekasam Sambas 1, SB2 = Sampel Pekasam Sambas 2, SB3 = Sampel Pekasam Sambas 3

Karakteristik Morfologi BAL

Karakterisasi BAL bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat-isolat yang diperoleh dari pekasam merupakan kelompok BAL. Karakterisasi morfologi BAL dilakukan secara makroskopik meliputi bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, dan warna koloni sedangkan mikroskopik meliputi pewarnaan Gram dilanjutkan dengan pengamatan di bawah mikroskop pada perbesaran 100 kali. Hasil identifikasi mikroskopik dan makroskopik isolat BAL ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Isolat BAL Pekasam

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel	
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Bentuk	Gram
SB1 (1)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (2)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (3)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (4)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (5)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (6)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB1 (7)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (1)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (2)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (3)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (4)	Circular	Entire	Convex	Putih kekuningan	Basil	+
SB2 (5)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (6)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (7)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (8)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+

Tabel 2. Karakteristik Isolat BAL Pekasam (Lanjutan...)

Kode Isolat	Morfologi Koloni			Warna	Morfologi Sel	
	Bentuk	Tepian	Elevasi		Bentuk	Gram
SB2 (9)	Circular	Entire	Convex	Putih kekuningan	Basil	+
SB2 (10)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (11)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (12)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB2 (13)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (1)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (2)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (3)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Kokus	+
SB3 (4)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (5)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (6)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (7)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (8)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (9)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (10)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (11)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (12)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+
SB3 (13)	Circular	Entire	Convex	Putih susu	Basil	+

Aktivitas Antimikroba BAL

Isolat BAL yang telah dikarakterisasi dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antimikroba yang hasilnya ditampilkan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa sebanyak 33 isolat BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan isolat BAL tergolong dalam kategori lemah karena diameter zona yang terbentuk <5 mm.

Tabel 3. Aktivitas Antimikroba Isolat BAL Terhadap Bakteri Patogen

Kode Isolat	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
SB1 (1)	2,08±0,06	1,98±0,15	2,37±0,33	3,27±0,13	1,75±0,36
SB1 (2)	2,53±0,03	1,95±0,10	2,25±0,10	3,00±0,15	1,07±0,08
SB1 (3)	2,62±0,28	1,95±0,13	2,07±0,08	2,73±0,20	1,05±0,05
SB1 (4)	3,15±0,18	1,92±0,12	2,10±0,10	2,85±0,26	1,13±0,10
SB1 (5)	2,12±0,08	2,92±0,28	2,43±0,08	2,53±0,53	1,05±0,05
SB1 (6)	2,07±0,08	2,22±0,13	2,73±0,28	2,57±0,48	3,37±0,64
SB1 (7)	2,23±0,06	2,27±0,06	2,68±0,32	2,52±0,50	1,97±0,38
SB2 (1)	2,77±0,29	2,33±0,33	0,75±0,56	1,93±0,08	2,40±0,39
SB2 (2)	2,35±0,23	1,82±0,20	1,05±0,05	1,93±0,14	2,55±0,36
SB2 (3)	2,12±0,06	2,08±0,28	0,87±0,71	1,73±0,20	2,47±0,03
SB2 (4)	2,93±0,19	2,48±0,20	1,17±0,10	2,02±0,08	2,55±0,35
SB2 (5)	2,05±0,05	2,70±0,43	2,28±0,15	2,63±0,44	2,05±0,18
SB2 (6)	2,68±0,21	2,07±0,08	1,13±0,10	2,10±0,00	2,88±0,03
SB2 (7)	1,73±0,23	2,77±0,45	1,98±0,06	2,17±0,12	2,75±0,26
SB2 (8)	2,53±0,45	2,97±0,60	1,33±0,16	2,38±0,49	2,82±0,10
SB2 (9)	2,42±0,20	2,25±0,10	1,33±0,08	2,05±0,26	2,53±0,14
SB2 (10)	1,67±0,20	2,17±0,18	2,67±0,36	2,62±0,16	3,27±0,60
SB2 (11)	1,70±0,09	2,10±0,10	2,50±0,48	2,72±0,28	3,32±0,40
SB2 (12)	2,13±0,10	3,10±0,13	2,18±0,12	2,58±0,33	3,32±0,78
SB2 (13)	2,27±0,20	2,02±0,06	1,80±0,05	2,02±0,06	1,82±0,72
SB3 (1)	2,55±0,09	2,83±0,21	2,60±0,36	3,07±0,08	1,10±0,05

Tabel 3. Aktivitas Antimikroba Isolat BAL Terhadap Bakteri Patogen (Lanjutan...)

Kode Isolat	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
SB3 (2)	2,48±0,10	2,68±0,28	2,38±0,15	3,25±0,33	3,32±0,25
SB3 (3)	2,02±0,20	2,15±0,28	2,37±0,44	2,53±0,33	1,08±0,03
SB3 (4)	1,45±0,13	2,50±0,07	2,67±0,26	2,32±0,29	1,30±0,13
SB3 (5)	1,30±0,15	2,58±0,49	3,05±0,46	2,93±0,63	2,12±0,88
SB3 (6)	2,68±0,20	3,18±0,69	2,52±0,25	3,17±0,16	2,78±0,10
SB3 (7)	1,07±0,08	2,13±0,06	2,17±0,18	2,48±0,28	1,20±0,05
SB3 (8)	2,12±0,06	2,67±0,40	3,33±0,45	3,15±0,15	2,47±0,08
SB3 (9)	2,08±0,08	2,32±0,10	2,33±0,08	2,67±0,58	3,60±0,22
SB3 (10)	2,68±0,08	2,10±0,09	2,02±0,15	2,10±0,09	2,75±0,10
SB3 (11)	1,37±0,28	2,13±0,10	2,42±0,35	2,68±0,25	1,47±0,15
SB3 (12)	1,35±0,15	2,48±0,25	2,95±0,79	2,60±0,05	1,53±0,19
SB3 (13)	2,37±0,03	2,23±0,10	2,20±0,20	2,23±0,10	2,57±0,16
Rata-rata	2,17±0,04	2,36±0,03	2,14±0,06	2,53±0,09	2,22±0,10

Rata-rata zona hambat berdasarkan sampel dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 4. zona hambat tertinggi terdapat pada sampel SB1 sebesar

2,78 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan zona hambat terendah pada sampel SB2 sebesar 1,62 mm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Sampel Pekasam Terhadap Bakteri Patogen

KODE SAMPEL	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
SB1	2,40±0,07	2,17±0,10	2,38±0,09	2,78±0,25	1,63±0,07
SB2	2,26±0,01	2,37±0,10	1,62±0,13	2,22±0,02	2,67±0,24
SB3	1,96±0,08	2,46±0,08	2,54±0,08	2,71±0,11	2,10±0,11
Kontrol +	2,73±0,10	2,47±0,16	2,81±0,03	3,02±0,06	2,86±0,08

PEMBAHASAN

Isolasi dan Total Koloni BAL

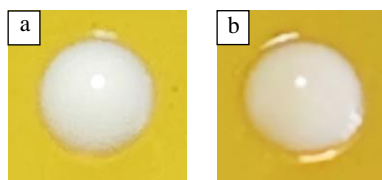
Setelah melalui tahap isolasi BAL, didapatkan 33 isolat BAL dari ketiga sampel pekasam. Sampel SB1 sebanyak 7 isolat, sampel SB2 sebanyak 13 isolat, dan sampel SB3 sebanyak 13 isolat. Pemilihan isolat berdasarkan total koloni pada cawan petri yang berkisar antara 25–250 koloni. Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian diamati dan dihitung untuk memperoleh jumlah total koloni BAL.

Hasil perhitungan total koloni BAL dalam sampel pekasam diperoleh sebesar $8,13 \times 10^5$ – $2,20 \times 10^7$ CFU/mL. Angka tersebut menunjukkan bahwa makanan fermentasi pekasam telah memenuhi standar yang dianjurkan dalam makanan probiotik yaitu antara 10^5 – 10^9 CFU/mL.¹³ Berdasarkan standar tersebut, total BAL pada pekasam sudah sesuai sehingga akan memberikan manfaat baik bagi kesehatan. Hasil pada penelitian

ini serupa dengan penelitian Rahardiyanti *et al.* yang mengisolasi BAL dari bekasam ikan nila dengan total BAL sebesar $7,5 \times 10^5$ CFU/mL.¹⁴ Penelitian lainnya oleh Astuti *et al.* memperoleh total BAL sebesar $7,8 \times 10^7$ – $1,2 \times 10^8$ CFU/mL dari bekasam ikan patin.¹

Karakteristik Morfologi BAL

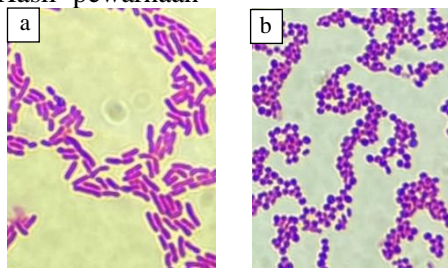
Tabel 2 menunjukkan bahwa semua isolat yang diisolasi dari pekasam termasuk dalam ciri-ciri BAL. Berdasarkan morfologi koloni, seluruh isolat memiliki koloni berbentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung, serta terdapat 31 isolat berwarna putih susu (Gambar 1a) dan 2 isolat berwarna putih kekuningan (Gambar 1b). Karakteristik seluruh isolat BAL pada penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yang mengisolasi BAL dari bekasam dengan bentuk koloni bulat, tepian rata, elevasi cembung, berwarna putih susu, dan putih kekuningan.⁶



Gambar 1. Bentuk Koloni BAL

Pengamatan mikroskopik dilakukan menggunakan pewarnaan Gram dengan mewarnai koloni yang tumbuh pada media MRSA yang telah diisolasi menjadi koloni murni. Hasil pewarnaan

Gram menunjukkan bahwa sebanyak 32 isolat memiliki bentuk sel basil (Gambar 2a) dan 1 isolat memiliki bentuk sel kokus (Gambar 2b).



Gambar 2. Sel BAL Pada Perbesaran 100

Seluruh isolat BAL dalam penelitian ini termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif karena menghasilkan warna ungu setelah dilakukan pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan zat warna kristal violet setelah dibilas dengan alkohol. Hal ini karena dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas peptidoglikan yang tebal. Saat dibilas dengan alkohol, pori-pori dinding sel menyempit karena terjadi dekolonisasi sehingga dinding sel tetap menahan zat warna kristal violet.¹⁵

Hasil penelitian Astuti *et al.* menunjukkan BAL termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif karena menghasilkan warna ungu dan memiliki sel berbentuk kokus.¹ Penelitian lainnya oleh Sari *et al.* dan Amarantini *et al.* menunjukkan bahwa setelah dilakukan pewarnaan Gram, BAL menghasilkan warna ungu, serta memiliki sel berbentuk basil dan kokus.^{6,16}

Aktivitas Antimikroba BAL

Tabel 3 menunjukkan bahwa sebanyak 33 isolat BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah jernih di sekitar kertas cakram. Zona hambat pada bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) menunjukkan diameter penghambatan yang lebih besar daripada bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang lebih kuat terhadap senyawa

antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram positif.

Perbedaan zona hambat diduga disebabkan oleh sensitivitas bakteri terhadap senyawa antimikroba yang dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif. Bagian luar bakteri Gram negatif tersusun atas lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Dinding sel yang tersusun atas polisakarida lebih mudah terdenaturasi dibandingkan dinding yang tersusun oleh fosfolipid.¹⁷

Selama proses fermentasi berlangsung BAL akan memproduksi berbagai macam senyawa antimikroba, salah satunya adalah asam organik. Asam-asam organik yang terbentuk akan menurunkan pH sehingga dapat mengubah permeabilitas membran sel bakteri patogen dan menyebabkan lisis. Rendahnya pH lingkungan di sekitar koloni bakteri patogen menyebabkan ketidakseimbangan pH internal dan eksternal sel. Selanjutnya, ion H⁺ dari luar berdifusi ke dalam sel sehingga menyebabkan plasmolisis sel dan menyebabkan enzim, molekul, serta protein terdenaturasi dan berujung pada kematian sel.¹⁸

Penelitian terdahulu menunjukkan daya hambat BAL terhadap bakteri Gram negatif, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, berturut-turut berkisar antara 2,68–4,35 mm, 0,9–1,6 mm, dan 0,6–4,5 mm.^{17,19} Hasil penelitian Hamidah *et al.* menunjukkan daya hambat BAL terhadap bakteri

Gram positif *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 2,73–5,92 mm.¹⁷

Perbedaan zona hambat antar sampel pada Tabel 4 diduga disebabkan oleh variasi bahan baku yang digunakan selama proses pembuatan pekasam, salah satunya adalah nasi. Penggunaan nasi pada ketiga sampel pekasam berkisar antara 5–31,25%. BAL akan mengurai karbohidrat menjadi berbagai senyawa asam organik seperti asam laktat dan asam asetat. Asam organik yang dihasilkan memberikan situasi asam yang tidak mendukung bagi pertumbuhan mikroorganisme patogen.¹

Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat isolat BAL dari ketiga sampel pekasam termasuk dalam kategori lemah karena berkisar antara 1,62–2,78 mm. Zona hambat antimikroba dikategorikan menjadi empat yaitu kategori lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (11–19 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm).²⁰ Penggunaan amoksisilin sebagai kontrol positif dikarenakan amoksisilin merupakan antimikroba berspektrum luas yang mampu membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif.²¹ Tabel 4 menampilkan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh amoksisilin berkisar antara 2,47–3,02 mm. Hasil menggunakan amoksisilin menunjukkan rata-rata diameter zona hambat lebih besar. Hal ini menunjukkan kontrol positif amoksisilin lebih efektif dibandingkan perlakuan BAL.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, total BAL pekasam berkisar antara $8,13 \times 10^5$ – $2,20 \times 10^7$ CFU/mL. Sebanyak 33 isolat BAL memiliki karakteristik bulat, tepian rata, elevasi cembung, berwarna putih susu, dan putih kekuningan. Seluruh isolat BAL termasuk dalam kelompok Gram positif dengan 32 sel berbentuk basil dan 1 sel berbentuk kokus serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan rata-rata diameter zona hambat <5 mm yang tergolong lemah sebagai antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti RT, Yufidasari HS, Nursyam H, B. JDG. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Ikan Patin dan Potensi Antimikrobanya terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *J Fish Mar Res.* 2021;5(3):578–85. DOI: 10.21776/ub.jfmr.2021.005.03.10
- Usman NA, Suradi K, Gumilar J. Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayonnaise Probiotik. *J Ilmu Ternak Univ Padjadjaran.* 2019;18(2):79–85. DOI: 10.24198/jit.v18i2.19771
- Koriasih P, Jannah SN, Raharjo B. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Tape Ketan dan Potensinya sebagai Agen Antikapang terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. *NICHE J Trop Biol.* 2019;2(2):7–13. DOI: 10.14710/niche.2.2.7-1
- Iacob S, Iacob DG, Luminos LM. Intestinal Microbiota as a Host Defense Mechanism to Infectious Threats. *Front Microbiol.* 2018;9(1):2–9. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03328
- Choesri D, Rusmana I, Suwanto A, Mubarik NR. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from an Indonesian Fermented Fish (Bekasam) and Their Antimicrobial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Emirates J Food Agric.* 2013;25(6):489–94. DOI: 10.9755/ejfa.v25i6.12478
- Sari M, Suryanto D, Yurnaliza. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated From Bekasam Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella sp.* Medan: IOP Conference Series Earth and Environmental Science (EES); 2018 [downloaded 1 December 2023]. Available from <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/130/1/012011>. DOI: 10.1088/1755-1315/130/1/012011
- Nurnaafi A, Setyaningsih I, Desniar. Probiotic Potential of Bekasam Lactic Acid Bacteria of Tilapia Fish. *J Teknol dan Ind Pangan.* 2015;26(1):109–14. DOI: 10.26740/lenterabio.v13n2
- Falakh MF, Asri MT. Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *Lentera Bio.* 2022;11(3):514–24. DOI: 10.26740/lenterabio.v13n2
- Susilowati AY, Jannah SN, Kusumaningrum HP. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing sebagai Bakteri Antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* Penyebab Foodborne Disease. *J Teknol Pangan dan Kesehatan.* 2022;6(2):33–41. DOI: 10.14710/jtp.2022.29488
- Kurnia M, Amir H, Handayani D. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: “Lemea.” *Alotrop.* 2020;4(1):25–32. DOI: 10.33369/atp.v4i1.13705
- Ningsih NP, Sari R, Apridamayanti P. Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* dari Es Pisang Ijo. *J Pendidik Inform dan Sains.* 2018;7(2):233–42. DOI: 10.31571/saintek.v7i2.1063

12. Kusumiyati, Setyaji DY, Fadillah MF, Rezaldi F. Uji Daya Hambat Madu Hutan Baduy sebagai Substrat pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen. MEDFARM J Farm dan Kesehat. 2022;11(2):142–60. DOI: 10.48191/medfarm.v11i2.109
13. Diza YH, Wahyuningsih T, Hermianti W. Penentuan Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Cemaran Mikroba Patogen pada Yoghurt Bengkuang selama Penyimpanan. J Litbang Ind. 2016;6(1):1–11. DOI: 10.24960/jli.v6i1.891.1-11
14. Rahardiyanti FP, Rianingsih L, Dewi EN. Penggunaan Konsentrasi Kunyit yang Berbeda terhadap Mutu Bekasam Ikan Nila. J Pangan dan Gizi. 2022;12(1):1–9. DOI: 10.32382/mak.v12i1.2142
15. Agustine L, Okfianti Y, Jum J. Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. J Dunia Gizi. 2018;1(2):79–83. DOI: 10.33085/jdg.v1i2.2972
16. Amarantini C, Satwika D, Budiarmo TY, Yunita ER, Laheba EA. Screening of Antimicrobial-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Fish Fermentation Against Pathogenic Bacteria. J Phys Conf Ser. 2019;1397(1):1–9. DOI: 10.1088/1742-6596/1397/1/012045
17. Hamidah MN, Rianingsih L, Romadhon. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. J Ilmu dan Teknol Perikan. 2019;1(2):11–21. DOI: 10.14710/jitpi.2019.6742
18. Riadi S, Setiyawati D, Situmeang S. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchii dan Teh Kombucha dalam Menghambat Bakteri Patogen. J Kesmas Prima Indones. 2020;2(1):25–9. DOI: 10.34012/jkpi.v2i1.891
19. Putra TF, Suprpto H, Tjahjaningsih W, Pramono H. The Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated From Peda, an Indonesian Traditional Fermented fish. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2018;137(1):1–7. DOI: 10.1088/1755-1315/137/1/012060
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. 26 Edition. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
21. Artati A, Armah Z, Anwar AY. Uji Sensitivitas Berbagai Jenis Antibiotik terhadap *Salmonella sp* yang Diisolasi dari Penderita Demam Typhoid. J Media Anal Kesehat. 2021;12(1):25–34. DOI: 10.32382/mak.v12i1.2142