

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH *Lactobacillus lactis* DARI SEDIMEN LAUT

### *Isolation and Characterization of Bacteriosin from Lactobacillus lactis Isolated from Marine Sediment*

Rofiq Sunaryanto<sup>1\*</sup> dan Tarwadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT. Gd. 630 Kawasan PUSPIITEK Serpong, Tangerang Selatan, Banten, Indonesia

\* Korespondensi Penulis: rofiq.sunaryanto@bppt.go.id

Diterima: 9 Februari 2015; Disetujui: 21 April 2015

#### ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dan karakterisasi bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* yang berasal dari sedimen laut. Karakterisasi bakteriosin meliputi uji aktivitas antimikroba, stabilitas terhadap suhu, pH, penambahan enzim, surfaktan, dan stabilitas bakteriosin terhadap penyinaran lampu UV. Aktivitas antimikroba bakteriosin diuji melawan bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 66923, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, dan *Candida albican*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriosin mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923 dan *B. subtilis* ATCC 66923, namun demikian tidak mampu menghambat pertumbuhan *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, dan *C. albican*. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* stabil terhadap pemanasan sampai dengan suhu 70 °C dan stabil pada rentang pH 3 sampai dengan 7. Aktivitas bakteriosin hilang dengan penambahan tripsin, pepsin, dan proteinase-K, namun aktivitas bakteriosin stabil terhadap penambahan  $\alpha$ -amilase. Penambahan tween 20, tween 80, dan EDTA mampu meningkatkan aktivitas bakteriosin sebesar 1,1 sampai dengan 1,2 kali dibandingkan dengan tanpa penambahan surfaktan. Penyinaran lampu UV selama 15 menit tidak berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin.

**KATA KUNCI:** bakteriosin, *Lactobacillus lactis*, antimikroba, sedimen

#### ABSTRACT

*Isolation and characterization of bacteriocin from marine Lactobacillus lactis covering antimicrobial activity, stability of temperature, pH, enzymes, and surfactant of bacteriocin have been conducted. Antimicrobial activity have been tested to Escherichia coli ATCC 25922, Enterococcus faecalis ATCC 29212, Bacillus subtilis ATCC 66923, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, and Candida albican. The result showed that the bacteriocin inhibited the growth of E. coli ATCC 25922, E. faecalis ATCC 29212 and S. aureus ATCC 25923 and most effective inhibited the growth of B. subtilis ATCC 66923, but did not inhibit the growth of L. plantarum, L. bulgaricus, L. casei, and C. albican. The bacteriocin produced by Lactobacillus lactis was stable to heat until 70 °C and stable at pH ranging from 3 to 7. Bacteriocin activity was lost with the addition of trypsin, pepsin, and proteinase-K, however bacteriocin was stable against  $\alpha$ -amylase. Addition of a surfactant tween 20, tween 80, and EDTA were able to increase bacteriocin activity until 1.1 to 1.2 times compared to no addition of surfactant. Irradiating by UV light for 15 minutes did not affect the bacteriocins activity.*

**KEYWORDS:** bacteriocin, *Lactobacillus lactis*, antimicrobial, sediment

#### PENDAHULUAN

*Lactobacillus* dikenal sebagai bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan senyawa aktif turunan protein yang disebut bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang memiliki efek

bakteriostatik maupun bakterisidal terhadap mikroorganisme lain. Bakteriosin merupakan metabolit ekstraseluler berupa protein yang disintesis langsung di ribosom, serta memiliki aktivitas bervariasi dalam spektrum antimikroba yang luas (Jack *et al.*, 1995). Bakteriosin dapat dihasilkan dari bakteri Gram-

positif dan Gram-negatif. Bakteriosin dapat bersifat kationik, anionik, maupun netral.

Dalam aplikasinya bakteriosin bermanfaat bagi industri makanan, khususnya industri makanan fermentasi. Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat sangat potensial digunakan sebagai pengawet makanan alami (Singh *et al.*, 2013). Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk makanan dan bakteri patogen pada makanan penyebab *food borne disease* (Chang & Chang, 2011; Ahmad *et al.* 2014). Penambahan bakteriosin dalam makanan selain untuk mencegah terjadinya pembusukan, juga berguna untuk memperpanjang waktu penyimpanan (Gautam & Sharma, 2009; Yusuf, 2013). Namun tidak semua bakteri asam laktat mampu menghasilkan bakteriosin (Ashraf & Shah, 2011).

Dalam aplikasinya sebagai pengawet makanan, bakteriosin memiliki beberapa keunggulan dibandingkan sistem pengawetan secara kimia, antara lain: (1) bakteriosin tidak toksik dan mudah mengalami biodegradasi karena merupakan senyawa protein, (2) tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan, (3) penggunaan bakteriosin dapat mengurangi penggunaan bahan kimia pengawet, (4) dalam aplikasinya sangat fleksibel; dapat berupa strain kultur starter unggul yang terseleksi dan mampu menghasilkan senyawa antimikroba (Gautam & Sharma, 2009).

Beberapa jenis bakteriosin yang telah dikenal saat ini adalah *nisin*, *diplococcin*, *acidophilin*, *bulgarican helveticins*, *laktacins*, dan *plantaricins* (Aly *et al.*, 2006). Nisin merupakan bakteriosin yang secara komersial telah diproduksi dan banyak tersedia di pasaran. Nisin memiliki aktivitas yang kuat melawan pertumbuhan bakteri Gram-positif. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* efektif melawan bakteri mesofilik (Ogunbanwo *et al.*, 2003).

Beberapa bakteriosin yang dihasilkan oleh mikroba lokal Indonesia telah banyak dilaporkan. Sebagian besar isolat penghasil bakteriosin yang telah dilaporkan diisolasi dari produk makanan fermentasi dan produk makanan olahan lainnya. Kusmarwati *et al.* (2014) telah melakukan isolasi bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dari rusip. Rahayu *et al.* (2004) telah mendapatkan bakteri asam laktat penghasil bakteriosin yang diisolasi dari daging dan olahannya. Romadhon *et al.* (2012) mendapatkan bakteriosin dari bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus udang. Namun belum banyak dilaporkan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* yang berasal dari sedimen laut. Tujuan penelitian ini adalah

untuk mendapatkan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* yang diisolasi dari sedimen laut serta mendapatkan informasi karakteristik bakteriosin yang dihasilkannya.

## METODE

### Penyegaran Isolat *Lactobacillus lactis* dan Produksi Bakteriosin

Isolat bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactobacillus lactis* yang berasal dari sampel sedimen laut yang merupakan kultur koleksi Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT. Penyegaran isolat dilakukan menggunakan media MRS agar, dan untuk produksi bakteriosin digunakan media MRS *broth*. Produksi bakteriosin dilakukan pada suhu 30 °C selama 72 jam dengan pH awal medium fermentasi pH 7.

Isolasi bakteriosin dilakukan sebagai berikut; kaldu hasil fermentasi disentrifus 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C dan disaring menggunakan filter ester selulosa 0,45 mm. Supernatan dinetralkan sampai dengan pH 7 menggunakan NaOH 1 M. Supernatan bebas sel dipekatkan dengan ammonium sulfat sampai dengan 80% dalam kondisi dingin dengan suhu 4 °C. Endapan yang terbentuk disaring menggunakan filter ester selulosa 0,45mm dan dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Endapan kering ini selanjutnya disebut sebagai ekstrak kering bakteriosin. Ekstrak kering bakteriosin kemudian dilarutkan kembali dengan buffer potasium fosfat pada pH 7 untuk mendapatkan suspensi bakteriosin yang digunakan untuk karakterisasi dan uji antimikroba pada tahap selanjutnya.

### Penentuan Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi sumur (Rahayu *et al.*, 2000 yang dimodifikasi). Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E.coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212, *B. subtilis* ATCC 66923, *S. aureus* ATCC 25923, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, dan *C. albican*. Sebanyak 50 ml kultur yang mengandung mikroba uji dengan konsentrasi 10<sup>8</sup> cfu/ml dituangkan ke dalam cawan petri bersamaan dengan medium *Nutrient Agar* dalam kondisi hangat yang telah disterilisasi. Selanjutnya didinginkan pada suhu 4 °C selama 1 jam sampai mengeras. Media *Nutrient Agar* yang sudah mengeras dibuat sumur dengan diameter 4 mm. Sepuluh mikro liter suspensi bakteriosin diteteskan pada sumur agar dan diinkubasi pada suhu 4 °C selama 1 jam dan dilanjutkan inkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong (*Vernier Caliper*).

### Penentuan Aktivitas Bakteriosin

Pada penentuan aktivitas bakteriosin digunakan metode difusi sumur (Rahayu *et al.*, 2000 yang dimodifikasi). Sebanyak 50 ml mikroba uji dengan konsentrasi  $10^8$  cfu/ml dalam larutan garam fisiologis dimasukkan dalam medium *Nutrient Agar* dalam kondisi hangat yang sudah disterilisasi. Selanjutnya didinginkan pada suhu  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam sampai mengeras. Mikroba uji yang digunakan sebagai indikator untuk penentuan aktivitas bakteriosin dalam penelitian ini adalah *E. coli* ATCC 25922. Mikroba uji ini telah diketahui mampu dihambat oleh bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Media agar yang telah mengeras dibuat sumur dengan diameter 4 mm. Sepuluh mikro liter suspensi bakteriosin diteteskan pada sumur agar dan diinkubasi pada suhu  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam dan dilanjutkan inkubasi pada suhu  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong (*Vernier Caliper*). Aktivitas penghambatan bakteriosin dinyatakan dengan *Arbitrary Units* per ml (AU/ml) (Simonova & Laukova, 2007). Satu AU/ml merupakan luas daerah hambat per satuan volume sampel bakteriosin uji ( $\text{mm}^2/\text{ml}$ ) (Usmiati & Marwati, 2007). Secara matematis dituliskan persamaan sebagai berikut:

Aktivitas bakteriosin ( $\text{mm}^2/\text{ml}$ ) =

$$1 \text{ AU/ml} = \frac{Lz-Ls}{V}$$

Dimana :

Lz = Luas zona bening ( $\text{mm}^2$ )

Ls = Luas sumur ( $\text{mm}^2$ )

V = Volume contoh (ml)

### Karakterisasi Bakteriosin

Karakterisasi bakteriosin meliputi uji kestabilan terhadap variasi pH, suhu, penambahan enzim, surfaktan, dan penyinaran UV. Metode uji masing-masing perlakuan dijelaskan sebagai berikut;

#### Uji kestabilan bakteriosin terhadap pH

Uji kestabilan bakteriosin terhadap pH dilakukan dengan membuat suspensi ekstrak kering bakteriosin dalam 50 mM buffer asetat pH 2 dan pH 3; 50mM buffer potasium fosfat pH 4, 5, 6, 7; 50 mM buffer Tris-HCl pH 8, 9; 50mM buffer borax-NaOH pH 10, 11. Selanjutnya diinkubasi pada suhu  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 4 jam. Setelah inkubasi selesai, suspensi bakteriosin dinetralkan kembali dengan penambahan HCl 6 M untuk pengasaman, dan penambahan NaOH 6 M untuk pembasaan. Aktivitas bakteriosin ditentukan

menggunakan prosedur yang telah dijelaskan sebelumnya.

#### Uji kestabilan bakteriosin terhadap suhu

Sebanyak 5 ml suspensi bakteriosin dalam buffer potasium fosfat pH 7 dipanaskan menggunakan *water bath* dalam interval suhu 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  dengan rentang waktu 10, 30, dan 45 menit. Suspensi bakteriosin yang telah mengalami perlakuan pemanasan selanjutnya ditambahkan larutan buffer potasium fosfat pH 7 sampai diperoleh volume 5 ml dan diuji aktivitas bakteriosinnya.

#### Uji kestabilan bakteriosin terhadap enzim

Uji kestabilan aktivitas bakteriosin terhadap penambahan enzim seperti pepsin, tripsin,  $\alpha$ -amilase, dan proteinase-K dilakukan sebagai berikut; sebanyak 500 ml suspensi bakteriosin ditambah 500 mg enzim dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Enzim yang digunakan adalah pepsin (Sigma-Aldrich) aktivitas enzim 91 U/ml, tripsin (Sigma-Aldrich) aktivitas enzim 14 U/ml, proteinase-K (Merck) aktivitas enzim 30 U/ml,  $\alpha$ -amilase (Sigma-Aldrich) aktivitas enzim 0,6 U/ml. Setelah inkubasi selesai selanjutnya dilakukan uji aktivitas bakteriosinnya.

#### Uji kestabilan bakteriosin terhadap surfaktan

Uji kestabilan bakteriosin terhadap beberapa surfaktan dilakukan dengan menambahkan surfaktan (tween 20, tween 80, EDTA) ke dalam suspensi bakteriosin sebesar 1%. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit, dan diuji aktivitas bakteriosinnya.

#### Pengaruh penyinaran UV terhadap kestabilan bakteriosin

Lima milliliter suspensi bakteriosin ditempatkan dalam cawan petri, selanjutnya disinari dengan lampu UV 15 Watt 50 Hz, panjang gelombang 340 nm dengan jarak 30 cm selama 15 menit. Selanjutnya diuji aktivitas bakteriosinnya.

## HASIL DAN BAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus lactis* mampu menghasilkan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Hasil uji antimikroba bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* terhadap beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji antimikroba bakteriosin terhadap mikroba uji  
 Table 1. Antimicrobial assay of bacteriocin against to microbial test

Mikroba Uji/Microbial Test	Diameter Zona Hambatan/ Zone of inhibition Diameter (mm)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6.5
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6.0
<i>B. subtilis</i> ATCC 66923	7.5
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	6.0
<i>L. acidophilus</i>	-
<i>L. plantarum</i>	-
<i>L. bulgaricus</i>	-
<i>L. casei</i>	-
<i>C. albican</i>	-

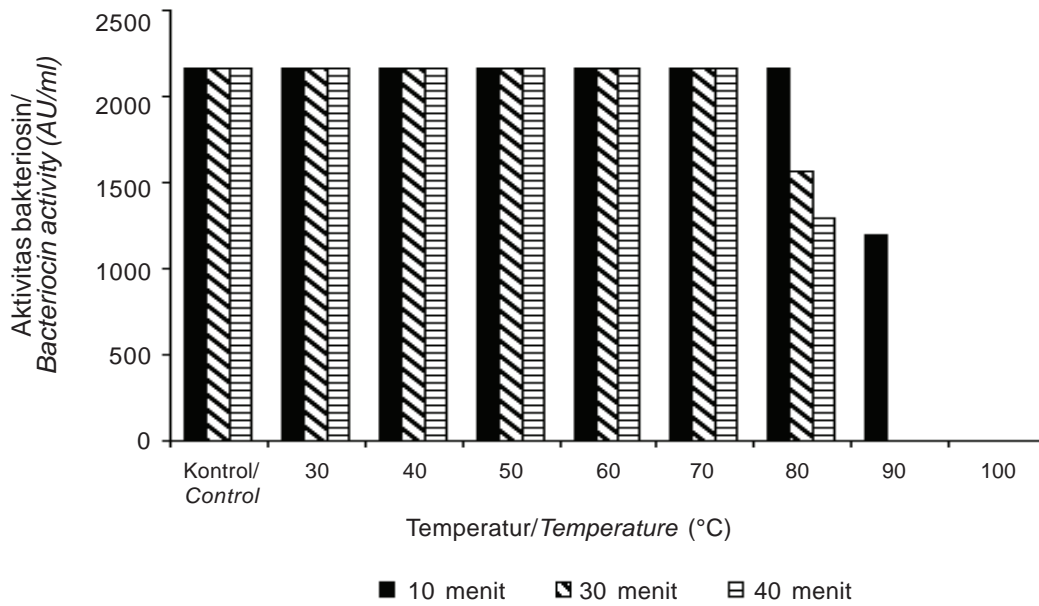
Tabel 1 menunjukkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 66923, dan *E. faecalis* ATCC 29212, namun tidak menghambat pertumbuhan *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, dan *L. acidophilus* serta *C. albican*. Bakteriosin ini menghambat pertumbuhan *B. subtilis* ATCC 66923 paling kuat. Zona hambat yang terbentuk adalah paling tinggi dengan diameter hambatan sebesar 7,5 mm. Menurut Gulluce *et al.* (2013) beberapa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri Gram-positif memiliki aktivitas hambatan dengan spektrum luas, namun bakteriosin tersebut tidak mampu menghambat mikroba penghasil bakteriosin itu sendiri. Hal yang sama dilakukan oleh Rajaran *et al.* (2010). Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* yang diisolasi dari sedimen laut di Pantai Sagar Paschimi India mampu menghambat sebagian besar pertumbuhan mikroba uji bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif.

Hasil karakterisasi kestabilan bakteriosin terhadap pemanasan menunjukkan bahwa bakteriosin stabil pada pemanasan sampai dengan 70 °C selama 45 menit. Aktivitas bakteriosin tidak mengalami penurunan dibandingkan kontrol (bakteriosin yang tidak dipanaskan). Pada pemanasan sampai dengan 80 °C selama 10 menit belum terjadi penurunan aktivitas bakteriosin, namun pemanasan pada suhu yang sama selama 30 menit menurunkan aktivitas bakteriosin sebesar 593 AU/ml atau menjadi 1570 AU/ml, dan pada pemanasan pada suhu yang sama selama 45 menit penurunan aktivitas bakteriosin mencapai 869 AU/ml atau menjadi 1294 AU/ml. Penurunan aktivitas ini diduga berkaitan dengan terjadinya deformasi protein bakteriosin. Aktivitas

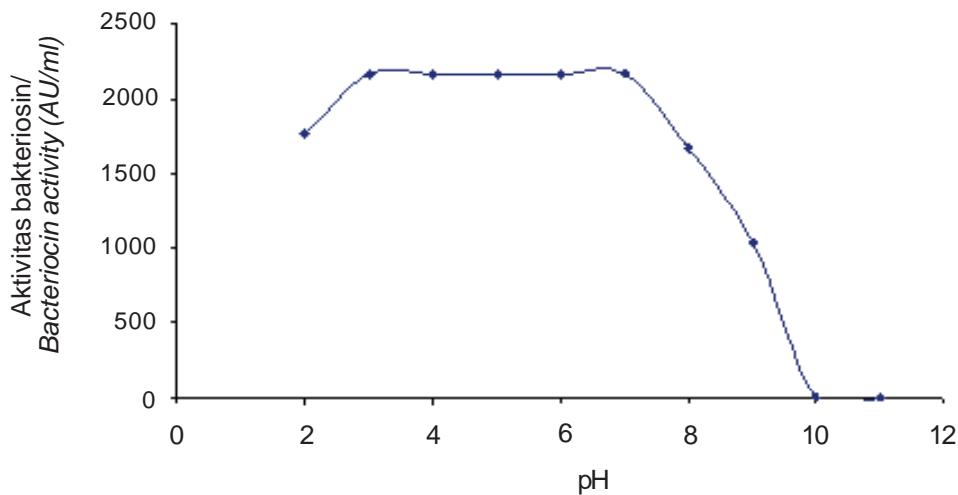
bakteriosin hilang sama sekali pada pemanasan suhu 90 °C selama 30 menit atau lebih dan pemanasan suhu 100 °C. Berbeda halnya dengan bakteriosin yang dilaporkan oleh Leelavatcharamas *et al.* (2011), bakteriosin yang dihasilkan oleh *Pediococcus acidilactic* bersifat termotoleran yang mampu bertahan sampai dengan pemanasan suhu 121 °C selama 30 menit. Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas bakteriosin disajikan dalam Gambar 1.

Hasil uji kestabilan aktivitas bakteriosin terhadap perubahan pH disajikan dalam Gambar 2. Bakteriosin masih stabil pada rentang pH 3 sampai dengan pH 7, namun pada pH di bawah 3 dan di atas 7 mengalami penurunan aktivitas. Tampak bahwa aktivitas bakteriosin tahan terhadap suasana asam, karena sampai dengan pH 3 belum terjadi penurunan aktivitas. Hal yang sama terjadi pada bakteriosin yang dihasilkan *L. bulgaricus*. Menurut Reddy *et al.* (1984) bulgarican dan lactobulgarican yang dihasilkan oleh *L. bulgaricus* menunjukkan aktivitas paling tinggi dan stabil pada pH 3 dan 4.

Dalam aplikasinya, bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* mampu bekerja pada pH asam sampai dengan pH netral, dan suhu yang diperbolehkan agar bakteriosin ini bekerja secara optimal adalah di bawah suhu 80 °C. Dari kedua profil ini, bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* cocok digunakan sebagai pengawet makanan alami yang tidak membutuhkan pemanasan dan bekerja pada pH asam atau netral. Sebagai contoh bakteriosin tersebut dapat digunakan sebagai pengawet daging, produk olahan susu, produk pangan asam (*salad dressing*), sosis, dan makanan dalam kaleng. Menurut Fawzya (2010) nisin yang merupakan salah satu bakteriosin yang bekerja pada



Gambar 1. Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas bakteriosin.  
 Figure 1. Heating effect on activity of bacteriocin.



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas bakteriosin.  
 Figure 2. pH effect on activity of bacteriocin.

pH asam, lebih sesuai digunakan sebagai bahan pengawet produk-produk fermentasi maupun produk ikan dalam kaleng dengan medium saus dalam tomat yang bersifat asam.

Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* juga diuji aktivitasnya terhadap penambahan enzim protease dan amilase. Hasil uji terhadap penambahan beberapa jenis enzim disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa penambahan  $\alpha$ -amilase tidak berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin. Namun penambahan pepsin, proteinase-K dan tripsin

sangat berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin. Terlihat dengan penambahan ketiga jenis enzim protease mampu menghilangkan aktivitas bakteriosin. Enzim amilase merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan-ikatan glukosa (1,4- $\alpha$ -glikosidik) dan tidak menghidrolisis ikatan peptida dalam protein, sehingga tidak mempengaruhi konformasi ikatan peptida maupun gugus aktif dalam bakteriosin. Lain halnya dengan pepsin, proteinase-K dan tripsin yang termasuk dalam enzim proteolitik, mampu menghidrolisis ikatan-ikatan peptida dan berpengaruh terhadap konformasi protein dalam bakteriosin. Hasil

Tabel 2. Pengaruh penambahan enzim terhadap aktivitas bakteriosin.  
 Table 2. Effect of enzymes to bacteriocin activity

Perlakuan / Treatment	Konsentrasi Enzim/ Enzymes Concentration (mg/ml)	Aktivitas Bakteriosin/ Bacteriocin Activity (AU/ml)
Kontrol (-)*		2163
$\alpha$ -amilase	0.1	2163
Pepsin	0.1	0
Proteinase K	0.1	0
Tripsin	0.1	0

(\*) = tanpa penambahan enzim/without addition of enzyme

percobaan menunjukkan bahwa penambahan pepsin, proteinase-K dan tripsin mengakibatkan hilangnya aktivitas bakteriosin. Hal yang sama disampaikan oleh Francois *et al.* (2013). Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* 29V sensitif terhadap hidrolisis enzim protease namun masih stabil terhadap hidrolisis enzim lipase dan amilase. Demikian juga dengan hasil penelitian Rajaran *et al.* (2010). Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* tidak tahan terhadap aktivitas enzim proteolitik seperti pepsin dan proteinase-K. Dalam aplikasinya sebagai bahan pengawet alami, bakteriosin sensitif terhadap enzim protease. Beberapa jenis buah-buahan dan makanan diketahui mengandung enzim proteolitik (papain dan bromelin) seperti papaya, kiwi, dan nanas. Dengan demikian jenis makanan ini tidak dapat dicampurkan dengan bahan pengawet seperti bakteriosin. Saat ini enzim proteolitik papain dan bromelin banyak digunakan sebagai bahan pengempuk daging. Hal ini tidak dapat dikombinasikan dengan bahan pengawet alami seperti bakteriosin.

Bakteriosin yang diperoleh dari hasil penelitian ini juga diuji aktivitasnya terhadap surfaktan dan penyinaran lampu UV. Hasil uji kestabilan bakteriosin

terhadap surfaktan tween 20, tween 80, EDTA dan penyinaran lampu UV disajikan dalam Tabel 3. Penambahan surfaktan berpengaruh positif terhadap peningkatan aktivitas bakteriosin. Tabel 3 menunjukkan bahwa pada penambahan tween 20 dan tween 80 mengakibatkan meningkatnya aktivitas bakteriosin sebanyak 1,1 kali dan penambahan EDTA meningkatkan aktivitas bakteriosin sebesar 1,2 kali. Peningkatan aktivitas bakteriosin ini diduga berkaitan dengan interaksi gugus hidrofil maupun lipofil bakteriosin dengan sel mikroba uji. Dengan adanya surfaktan, kontak antara bakteriosin dengan membran sel mikroba uji menjadi lebih efektif. Menurut Chen & Yanagida (2006), surfaktan berpengaruh terhadap sistem permeabilitas sel membran dalam cairan sel. Hal yang sama dijelaskan oleh Elayaraja *et al.* (2014). Surfaktan khususnya EDTA yang bertindak sebagai *Metal Chelating Agent* (MCA) mampu menurunkan stabilitas lapisan lipopolisakarida (LPS layer) yang berada dalam membran sel dengan cara mengikat ion divalensi seperti  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  dengan membentuk ikatan kompleks. Adanya penurunan stabilitas pada lapisan luar membran sel, membuat bakteriosin menjadi lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Altuntas, 2013).

Tabel 3. Pengaruh surfaktan dan penyinaran UV terhadap aktivitas bakteriosin.  
 Table 3. Effect of surfactant and UV radiation on bacteriocin activity

Perlakuan/ Treatment	Konsentrasi Surfaktan Surfactant Concentration (%)	Aktivitas Bakteriosin/ Bacteriocin Activity (AU/ml)
Kontrol/Control (-)*	-	2163
Tween 20	1	2373
Tween 80	1	2373
EDTA	1	2590
Penyinaran UV	-	2163

(\*) = tanpa penambahan surfaktan & penyinaran UV/without addition of surfactant and UV radiation

Penyinaran UV pada suspensi bakteriosin tidak berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin. Sebelum dan sesudah penyinaran UV, aktivitas bakteriosin tetap sebesar 2163 AU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan-ikatan peptida maupun gugus aktif penyusun konformasi protein dalam bakteriosin masih stabil terhadap penyinaran lampu UV. Hal yang sama disampaikan oleh Fatima & Mebrouk (2013), bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* dan *Pediococcus pentosaceus* tetap stabil dan aktivitas bakteriosin tidak berubah akibat penyinaran lampu UV selama 75 menit.

*Lactobacillus lactis* termasuk dalam genus *Lactobacillus*, Family *Lactobacillaceae*, order *Lactobacillales*. Dalam taksonomi terbaru *Lactobacillus lactis* masuk dalam sub spesies *Lactobacillus delbrueckii*, sehingga sering disebut sebagai *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* (Weis *et al.*, 1983; Hammes & Vogel, 1995). *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* diketahui mampu menghasilkan bakteriosin Lacticin yang memiliki karakteristik sensitif atau tidak tahan terhadap aktivitas enzim proteolitik dan tahan terhadap pemanasan sampai dengan 60 °C selama 10 menit (Toba *et al.*, 2008). Boris *et al.* (2001) telah melakukan karakterisasi parsial bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* UO004. Bakteriosin yang diperoleh tahan terhadap pemanasan sampai dengan 100 °C selama 30 menit, namun demikian akan terjadi penurunan aktivitas bakteriosin dengan adanya penambahan enzim proteolitik. Perbedaan karakteristik bakteriosin dari dua kasus tersebut di atas mengindikasikan adanya beberapa jenis bakteriosin dengan karakteristik yang berbeda yang dihasilkan oleh *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*.

Dalam satu Order *Lactobacillales* terdapat spesies *Lactococcus lactis* (*Lc.lactis*) yang mampu menghasilkan nisin sebagai salah satu bakteriosin yang telah banyak digunakan dalam industri pengawet makanan. *Lactococcus lactis* termasuk dalam genus *Lactococcus*, Family *Streptococcaceae* dan order *Lactobacillales*. Walaupun memiliki nama spesies yang mirip dengan *Lactobacillus lactis*, *Lactococcus lactis* tidak termasuk dalam satu Genus maupun Family dengan *Lactobacillus lactis*. *Lactococcus lactis* tergolong bakteri asam laktat mesofilik, sedangkan *Lactobacillus lactis* tergolong bakteri asam laktat termofilik (Barbara *et al.*, 2000).

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut; bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* mampu menghambat

pertumbuhan *E.coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212 dan *S.aureus* ATCC 25923, serta efektif menghambat pertumbuhan *B. subtilis* ATCC 66923, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. acidophilus* maupun *C. albican*. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* stabil pada pemanasan sampai dengan 70 °C dan stabil pada rentang pH 3 sampai dengan 7. Aktivitas bakteriosin menjadi hilang dengan penambahan proteinase-K, tripsin dan pepsin, namun tetap stabil pada penambahan enzim  $\alpha$ -amilase. Penambahan surfaktan tween 20, tween 80 dan EDTA, mampu meningkatkan aktivitas bakteriosin sebesar 1,1 sampai dengan 1,2 kali dibandingkan tanpa penambahan surfaktan. Karakteristik bakteriosin yang mampu bekerja di bawah suhu 80 °C dan pada rentang pH 3 sampai dengan 7, lebih sesuai diaplikasikan sebagai pengawet makanan alami seperti pengawet daging, produk olahan susu, produk pangan asam (*salad dressing*), sosis, produk fermentasi dan ikan dalam kaleng.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, V., Iqbal, A.N., Haseeb, M., & Khan, M.S. (2014). Antimicrobial potential of bacteriocin producing *Lysinibacillus jx416856* against food borne bacterial and fungal pathogens, isolated from fruits and vegetable waste. *Anaerobe*, (27), 87–95.
- Altuntas, G. (2013). Bacteriocins: A natural way to combat with pathogens. In Méndez-Vilas A. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Formatex Research Center. Badajoz. Spanyol.
- Aly, S., Cheik, O.A.T., Imael, B.H., Traore, N., & Alfred, S. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria-a minireview. *Afr. J. Biotechnol*, 5(9), 678–683.
- Ashraf, R. & Shah, N.P. (2011). Antibiotic resistance of probiotic organisms and safety of probiotic dairy products. *Inter. Food Res.*, 18(3), 837–853.
- Barbara, M.L., Baird-Parker, T.C., & Gould, G.W. (2000). *Microbiological Safety and Quality of Food*. Volume I. Aspen Publishers Inc, Kluwer Company.
- Boris, S., Jimenez-Diaz, R., Caso, J.L., & Barbe, C. (2001). Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* UO004 an intestinal isolate with probiotic potential. *J. Appl Microbiol*, (91), 328–333.
- Chang, J.Y. & Chang, H.C. (2011). Growth inhibition of food borne pathogens by kimchi prepared with bacteriocin-producing starter culture. *J. Food Sci*, 76(1), 72–78.
- Chen, Y.S. & Yanagida, F. (2006). Characteristics and effects of temperature and surfactants on bacteriocin-like inhibitory substance production of soil-isolated *Lactobacillus animalis* C060203. *Curr Microbiol*, 53(5), 384–387.

- Elayaraja, S., Annamalai, N., Mayavu, P., & Balasubramanian, T. (2014). Production, purification and characterization of bacteriocin from *Lactobacillus murinus* AU06 and its broad antibacterial spectrum. *Asian Pac. J. Trop Biomed*, 4(1), 305–311.
- Fatima, D. & Mebrouk, K. (2013). Characterization and determination of the factors affecting anti-listerial bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* isolated from dairy milk products. *Afr. J. Food Sci.*, 7(2), 35–44.
- Fawzya, Y.N. (2010). Bahan pengawet nisin: aplikasinya pada produk perikanan. *Squalen*, 5(3), 79–85.
- Francois, Z.N., Marie, K.P., Huguette, T.A., & Emeric, G.W.R. (2013). Antimicrobial activity of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 29V and strain's viability in Palm kernel oil. *Inter J. Nutr Food Sci.*, 2(3), 102–108.
- Gautam, N. & Sharma, N. (2009). Bacteriocin: safest approach to preserve food products. *Indian J. Microbiol.*, 49(3), 204–211.
- Gulluce, M., Karaday, M., & Barýs, O. (2013). Bacteriocins: promising natural antimicrobials di dalam Méndez-Vilas A. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating them: Science, Technology and Education*. Formatex Research Center. Badajoz. Spanyol.
- Hammes, W.P. & Vogel, R.F. (1995). The genus *Lactobacillus*. In Wood, B.J.B. dan Holzapfel, W.H. (ed.). *The genera of lactic acid bacteria* (p. 19–54). CRC Press Taylor & Francis Group Florida.
- Jack, R.W., Tagg, J.R., & Ray, B. (1995). Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol Rev.*, 59(2), 171–200.
- Kusmarwati, K., Arief, F.R., & Haryati, S. (2014). Eksplorasi bakteriosin dari bakteri asam laktat asal rusip Bangka dan Kalimantan. *JPB Perikanan*, 9(1), 29–40.
- Leelavatcharamas, V., Arbsuwan, N., Apiraksakorn, J., Laopaiboon, P., & Kishida, M. (2011). Thermotolerant bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Thai local fermented foods and their bacteriocin productivity. *Biocontrol Sci.*, 16(1): 33–40.
- Ogunbanwo, S.T., Sanni, A.I., & Onilude, A.A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J Biotechnol.*, 2(8), 219–227.
- Rahayu, E.S., Wardani, A.K., & Margino, S. (2004). Skrining bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dari daging dan produk olahannya. *AgriTech*, 24(2), 74–78.
- Rahayu, E.S., Margino, S., & Hermayani, E. (2000). Produksi bakteriosin oleh *Leuconostoc mesenteroides* SM 22 menggunakan tetes sebagai sumber karbon. *Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi II*. Jakarta, 15-16 Februari 2000.
- Rajaran.G., Manivasagan. P., Thilagavathi. B., & Saravnakumar, A. (2010). Purification and characterization of a bacteriosin produced by *Lactobacillus lactis* isolated from marine environment. *Adv J. Food Sci Technol*, 2(2), 138–144.
- Reddy, G.C., Shahani, K.M., Friend, B.A., & Chandan, R.C. (1984). Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, production and partial purification of *Bulgaricus* culture. *J. Dairy Product.*, 8, 15–19.
- Romadhon., Subagiyo., & Margino, S. (2012). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari usus udang penghasil bakteriosin sebagai agen antibakteria pada produk-produk hasil perikanan. *J. Saintek Perikanan*, 8(1), 59–64.
- Simonov, M. & Laukova, A. (2007). Bacteriosin activity of *Enterococci* from rabbit. *Vet. Res. Commun.*, (31), 143–152.
- Singh, R., Sivasubramani, K., Jayalakshmi, S., Kumar, S.S., & Selvi, C. (2013). Isolation and production of bacteriocin by marine *Lactobacillus fermentum* SBS001. *Int. J. Curr.Microbiol. App. Sci.*, 2(4), 67–73.
- Usmiati, S. & Marwati, T. (2007). Seleksi dan optimasi proses produksi bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. *J. Pascapanen*, 4(1), 27–37.
- Weiss, N., Schillinger, U., & Kandler, O. (1983). *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus leichmannii* and *Lactobacillus bulgaricus* subjective synonyms of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* comb. nov. and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* comb. nov. *Syst. Appl. Microbiol.*, (4), 552–557
- Yusuf, M.A. (2013). Lactic acid bacteria: Bacteriocin producer: A mini review. *IOSR J Pharm.*, 3(4), 44–50.