

UJI DAYA ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KEFIR dengan Inokulum Ragi Tape TERHADAP *Escherichia coli*

Agung Setia Ningsih¹⁾, Christina Nugroho Ekowati²⁾, Sumardi²⁾, Salman Farisi²⁾

^{1,2}FMIPA Biologi Universitas Lampung
Email: ecoli.lacto@gmail.com

Diterima : 15 Oktober 2018. Disetujui: 22 November 2018. Dipublikasikan: 29 Desember 2018

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari kefir susu sapi dan susu kedelai terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu isolasi dan identifikasi BAL kefir, produksi zat antibakteri dari isolat, menguji daya hambat isolat antibakteri BAL terhadap *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan Keenam Isolat bakteri asam laktat dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dalam kondisi asam dan netral. Dalam kondisi asam luas zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 3,51; 2,93; 2,66 dan SA1-SA3 adalah 1,83; 2,46; 2,46. Dalam kondisi netral zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 1,59; 2,33; 1,99 dan SA1-SA2 adalah 1,49; 2,49; 2,39.

Kata kunci : Kefir, Bakteri Asam Laktat, Antibakteri, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*.

Abstract

This study aimed to determine the antibacterial power produced by isolates of lactic acid bacteria from kefir of cow's milk and soy milk on Escherichia coli. This research was conducted in four stages, namely isolation and identification of kefir BAL, antibacterial substance production from isolates, testing the inhibition of BAL antibacterial isolates against Escherichia coli. The results showed that the sixth lactic acid bacterial isolate from soybean kefir and cow's milk kefir was able to inhibit the growth of Escherichia coli in acidic and neutral conditions. In acidic conditions, the KE1-KE3 inhibition zone is 3.51; 2.93; 2.66 and SA1-SA3 are 1.83; 2.46; 2.46. In the neutral condition of the KE1-KE3 inhibitory zone, respectively 1.59; 2.33; 1.99 and SA1-SA2 are 1.49; 2.49; 2.39.

Keywords: Kefir, Bakteri Asam Laktat, Antibakteri, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Kefir merupakan produk fermentasi dari susu hewani atau susu kedelai menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (kefir *grain*/kefir *granule*) yang terdiri dari berbagai kumpulan bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli*, *Streptococcus sp.*, *Lactococcus*, dan beberapa jenis ragi/khamir nonpatogen. Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-

senyawa asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa-senyawa lain diantaranya H_2O_2 , diasetil dan bakteriosin dalam jumlah yang relatif sedikit dibandingkan dengan produksi asam organik, sehingga BAL dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri (Fatmadewi, 2018; Kusmiati, 2002).

Kefir menghasilkan zat antibakteri berupa asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil, asetaldehid, karbondioksida, alkohol, dan bakteriosin. Efek dari zat antibakteri dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membran sel, enzim-enzim, dan protein struktural (Widodo, 2003). Pelczar dan Chan menyatakan bahwa cara kerja senyawa antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme yaitu dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sel, kerusakan sitoplasma, menghambat kerja enzim serta menghambat sintesis asam nukleat protein (Dewi, 2009).

Rachmawati *et al.* menjelaskan bahwa BAL yang berasal dari asinan sawi mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Siregar, 2018). Lindawati *et al.* menyatakan bahwa susu fermentasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif dan Gram negatif secara *in vitro* (Halim & Zubaidah, 2013). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya kefir dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (Lestari & Hartati, 2017). Menurut penelitian Sujaya *et al* pada ragi tape terdapat bakteri asam laktat (BAL) antara lain *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Weissella confusa*, dan *Weissella paramesenteroides* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa (La Sinurat, Ekowati, Sumardi, & Farisi, 2019). Untuk itu perlu dilakukan penelitian uji daya antibakteri isolat bakteri asam laktat (BAL) dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi terhadap *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan Maret 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan beberapa pahan, yaitu kefir susu kedelai dan kefir susu sapi, MRSA (*De Man Rogosa and Sharpe Agar*, MRS Broth (*De Man Rogosa and Sharpe Broth*), NA (*Nutrient Agar*), alkohol, aquades, isolat *Escherichia coli* koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila.

Langkah penelitian ini terdiri dari: (1) **Isolasi BAL dari kefir**, dilakukan dengan metode *streak plate* kuadran. Satu ose kefir susu sapi dan susu kedelai dengan inokulum ragi tape digoreskan pada permukaan media MRS agar. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah 24 jam diidentifikasi koloni bakteri meliputi bentuk, warna, dan margin bakteri. Serta dilakukan uji motilitas, uji katalase, dan pengecatan Gram dan spora; (2) **Preparasi Antibakteri**, satu ose isolat yang berumur 24 jam diinokulasikan dalam 10 ml MRSB dan diinkubasi pada *shaker* selama 18- 24 jam. Selanjutnya kultur ini sebagai starter. Sebanyak 10 ml starter diinokulasikan ke dalam 90 ml MRSB, kemudian diinkubasi pada *shaker* selama 24 jam. Sebanyak 50 ml kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm suhu 4 °C selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan sebagai ekstrak kasar antibakteri asam. Sebanyak 50 ml kultur pH dinetralkan menggunakan NaOH 1 M hingga dicapai pH 7. Kemudian kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan sebagai ekstrak kasar antibakteri yang sudah dinetralkan. (3) **Uji daya hambat Antibakteri**, antibakteri yang digunakan meliputi antibakteri tanpa penetralan dan antibakteri yang sudah dinetralkan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumur agar (*agar well diffusion*). Satu ml suspensi *E.coli* diinokulasikan pada cawan petri steril, kemudian ditambahkan NA sebanyak 25 ml kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah padat dibuat dua lubang sumur pada setiap cawannya dengan diameter 7 mm menggunakan tip pipet 1 ml steril diinokulasikan Ekstrak kasar antibakteri pada sumur sebanyak 100 µl, perlakuan yang sama terhadap ekstrak antibakteri netral. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran menunjukkan daya hambat antibakteri BAL terhadap bakteri uji; (4) **Perhitungan luas zona hambat antibakteri BAL**, luas zona hambat ditentukan dengan bantuan plastik kaku yang digunakan untuk menjiplak zona jernih yang terbentuk, selanjutnya plastik dipotong dan ditimbang. Luas zona hambat diketahui dengan mengkonversikan berat masing – masing plastik kaku berukuran 1cm² dan dikurangi dengan luas lingkaran sumur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakter Isolat Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kedelai Dan Kefir Susu Sapi Secara Morfologi Dan Fisiologi

Dari hasil isolasi BAL kefir ditemukan tiga dari isolat kefir susu kedelai dan tiga dari isolat kefir susu sapi yang memiliki karakter berbeda (Tabel 1).

Tabel 1.
Morfologi Koloni BAL, Bentuk Sel dan Sifat Fisiologis
Dari Kefir Susu Kedelai dan Kefir Susu Sapi

| Isolat | Warna | Bentuk | Elevasi | Margin | Bentuk Sel | Gram | Spora | Katalase | Motilitas |
|--------|-------|----------|---------|----------|------------|---------|---------|----------|-----------|
| KE1 | Putih | Circular | Raised | Entire | Basil | Positif | Negatif | - | - |
| KE2 | Putih | Circular | Raised | Undulate | Basil | Positif | Negatif | - | - |
| KE3 | Putih | Circular | Convex | Entire | Kokus | Positif | Negatif | - | - |
| SA1 | Putih | Circular | Raised | Undulate | Basil | Positif | Negatif | - | - |
| SA2 | Putih | Circular | Convex | Entire | Basil | Positif | Negatif | - | - |
| SA3 | Putih | Circular | Raised | Entire | Kokus | Positif | Negatif | - | - |

Keterangan:

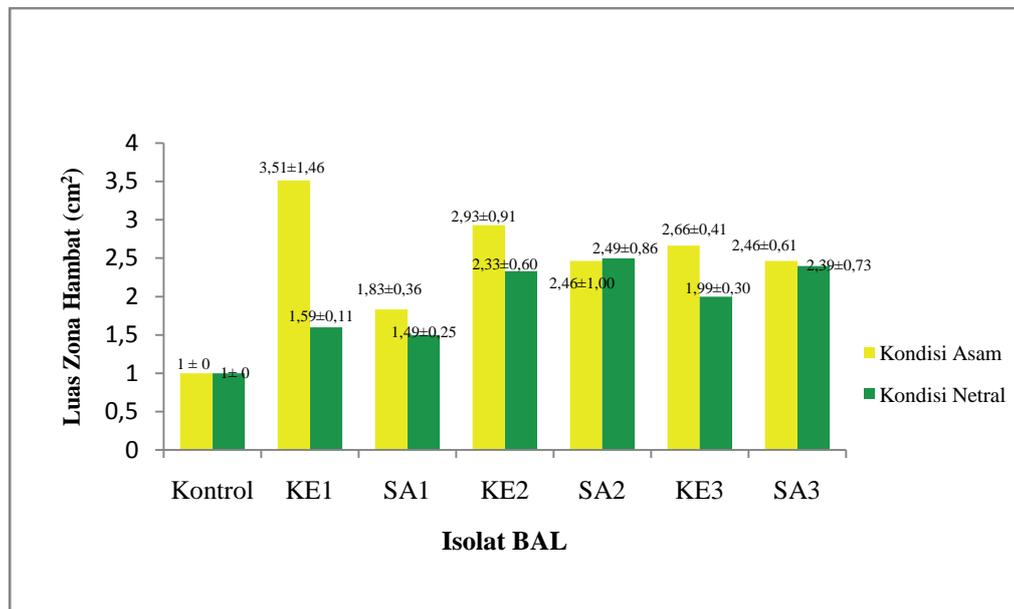
- KE menandakan isolat BAL kedelai
- SA menandakan isolat BAL sapi

Fauzan, 2009 menyatakan bahwa bakteri yang memproduksi asam laktat termasuk ke dalam golongan bakteri Gram-positif, sebagian besar bersifat katalase negatif, tidak membentuk spora, berbentuk batang dan kokus. Golongan bakteri asam laktat ini dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen.

B. Indeks Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL Kefir Terhadap *Escherichia coli*

Hasil uji senyawa antibakteri keenam isolat terhadap *Escherichia coli* terbentuk zona jernih disekitar sumuran yang berisi ekstrak kasar antibakteri kefir. Dari hasil tersebut membuktikan bahwa ekstrak kasar antibakteri mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Pada kefir susu kedelai isolat KE1 memiliki kemampuan daya hambat terbesar pada *Escherichia coli* sedangkan pada isolat BAL dari kefir susu sapi SA2 yang memiliki kemampuan daya hambat terbesar pada *Escherichia coli* (Gambar 1). Besarnya daya hambat dapat diketahui dengan zona jernih yang terbentuk disekitar sumuran. semakin besar zona jernih yang terbentuk maka semakin besar aktivitas penghambatan. Hal ini sesuai penelitian Khikmah (2015)

terdapat aktivitas antibakteri dari susu fermentasi komersial terhadap bakteri gram negatif (*S. thypii* dan *E.coli*).



Gambar 1. Indeks Daya Hambat Antibakteri BAL Kefir Terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan Gambar 1. diketahui bahwa terdapat perbedaan indeks daya hambat yang dihasilkan dari isolat BAL kefir susu kedelai dan BAL kefir susu sapi. Zona hambat terbentuk dalam kondisi asam maupun kondisi yang dinetralkan. Hal ini menunjukkan tidak hanya asam organik yang terdapat dalam ekstrak antibakteri tetapi ada senyawa lain seperti hidrogen peroksida yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam kondisi asam antibakteri yang berperan adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, asetaldehid, karbondioksida, alkohol, dan bakteriosin. Menurut Alokomi *et al* (2000) asam organik yang dihasilkan menyebabkan penurunan pH dan menyebabkan sitoplasma sel menjadi asam, mengacaukan potensial transmembran dan menghambat transport substrat. Asam organik mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji karena asam organik mengganggu keseimbangan asam-basa, penambahan proton serta produksi energi di sel. Hal ini berakibat transpor nutrisi pada dinding sel terganggu dan berakibat kematian sel.

Sementara dalam kondisi netral zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari antibakteri yang asam dikarenakan antibakteri telah dinetralkan dengan menambah NaOH 1 M sampai pH 7. Antibakteri yang berperan menghambat pertumbuhan bakteri

uji dalam kondisi netral adalah antibakteri non asam seperti hidrogen peroksida, diasetil, asetoin, reuterin, reutericylin, antifungal peptides dan bakteriosin (Ghanbari, 2013). Bakteriosin bersifat bakterisidal dengan mengganggu potensial membran sehingga proses masuknya nutrisi ke dalam sel terganggu dan sel tidak dapat berespirasi yang menyebabkan sel tidak mampu bertahan. Sedangkan hidrogen peroksida mengganggu keseimbangan permeabilitas membran dengan menghambat transpor anion dalam sel.

Berdasarkan hasil analisis statistika menggunakan one way ANOVA, $\alpha = 0,05$ menunjukkan kemampuan isolat BAL kefir tidak memiliki perbedaan nyata ($p > 0,05$) terhadap *Escherichia coli*. Dan jika dilihat dari rata – rata kedua kelompok tersebut antara isolat BAL kefir susu kedelai dan isolat BAL kefir dari susu sapi, rata – rata terbesar secara umum adalah isolat BAL kefir susu kedelai. Hal ini disebabkan kandungan karbohidrat susu kedelai lebih tinggi dibanding susu sapi. Menurut Aman dan Hardjo (1973) kandungan karbohidrat susu kedelai dalam 100ml sebanyak 5gram dan susu sapi sebanyak 4,3 gram. Hidrolisa karbohidrat baik oleh asam atau enzim akan menyebabkan menurunnya pH sehingga semakin banyak karbohidrat yang dihidrolisis akan semakin rendah pH akan menyebabkan aktivitas antibakteri akan lebih tinggi. Hasil ini bahwa antibakteri dari kefir susu kacang hijau lebih tinggi dibandingkan dengan kefir susu sapi (Wijaningsih, 2008).

KESIMPULAN

Isolat BAL dari kefir susu sapi dan susu kedelai memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Isolat KE1 memiliki kemampuan terbesar menghambat bakteri *Escherichia coli* dalam kondisi asam dan isolat SA2 memiliki kemampuan terbesar menghambat bakteri *Escherichia coli* dalam kondisi netral.

Saran, perlu dilakukan pengujian antibakteri terhadap spesies bakteri yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, R. C. (2009). *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (Trichosanthes anguina L.)*. Universitas Negeri Sebelas Maret.
- Fatmadewi, L. (2018). *Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (Bos taurus) serta Kemampuan dalam Menghambat Pertumbuhan Escherichia coli dan Shigella sp.*

- Halim, C. N., & Zubaidah, E. (2013). Studi kemampuan probiotik isolat bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida tinggi asal sawi asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1), 129–137.
- Hendarrmin, L. A. (t.t.). *Efek hambat berbagai pasta gigi terhadap pertumbuhan bakteri Streptococcus mutans*.
- Kusmiati, M. A. (2002). Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada berbagai media. *Makara Kesehatan*, 6(1), 1–6.
- La Sinurat, R., Ekowati, C. N., Sumardi, S., & Farisi, S. (2019). Karakteristik kefir Susu Sapi Dengan Inokulum Ragi Tape. *Jurnal ilmiah peternakan terpadu*, 6(2), 111–116.
- Lestari, P. B., & Hartati, T. W. (2017). *Mikrobiologi Berbasis Inkuiry*. Penerbit Gunung Samudera [Grup Penerbit PT Book Mart Indonesia].
- Santosa, R. (t.t.). *Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (Theobroma Cacao) Sebagai Antibakteri Terhadap Propionibacterium Acnes Secara In Vitro*.
- Siregar, R. F. (2018). *Kemampuan Bakteri Asam Laktat dari Feses Orangutan Sumatera (Pongo abelii) dan Monyet Ekor Panjang (Macaca fascicularis) dalam Menghambat Beberapa Bakteri Patogen Pencernaan Hewan Primata in Vitro*.
- Widodo, W. (2003). *Bioteknologi Industri Susu. Cetakan ke-1. Yogyakarta: Lacticia Press. p, 114.*
- Wijaningsih, W. (2008). *Aktivitas Antibakteri In Vitro Dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (Vigna Radiata) Oleh Pengaruh Jumlah Starter Dan Lama Fermentasi In Vitro Antibacterial Activity And Chemichalproperties Of Mungbean Milk Kefir (Vigna Radiata) As Affected By Cultures Concentration Andfermentation Time. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.*