

**Uji Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari *Lactobacillus brevis*,
Lactobacillus casei dan *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri
Patogen Gram Negatif**

Narimo^{1*}, Rafika Sari¹, Pratiwi Apridamayanti¹

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
Jl.Prof.Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak

Abstrak: Bakteriosin merupakan produk metabolit sekunder dari bakteri asam laktat (BAL) yang bersifat antimikroba sehingga berpotensi sebagai bahan pengawet alami. Isolat BAL yang digunakan pada penelitian ini adalah *lactobacillus brevis*, *lactobacillus casei* dan *lactobacillus plantarum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteriosin yang dihasilkan oleh masing-masing isolat BAL meliputi pengaruh variasi pH dan pemanasan terhadap *proteus mirabilis*, *salmonella thypi* dan *pseudomonas aeruginosa*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Uji konfirmasi menggunakan enzim proteolitik bertujuan untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan oleh bakteriosin dari *L.Brevis*, *L.Casei* dan *L. Plantarum* terhadap *Proteous mirabilis* masing-masing adalah 15,70 mm; 16,40 mm dan 14,5 mm, terhadap *Salmonella thypi* adalah 13,36 mm; 14,10 mm dan 12,53 mm dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing adalah 11,36 mm; 14,50 mm dan 12,45 mm. Aktivitas bakteriosin berkurang dengan penambahan tripsin dan katalase, bakteriosin aktif pada rentang pH 2-10 dan pemanasan 40-121⁰C. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa penambahan tripsin dan katalase serta variasi pH dan pemanasan berpengaruh secara signifikan ($P < 0,05$) terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteriosin dari *L.Brevis*, *L.Casei* dan *L. Plantarum*.

Kata kunci : BAL, bakteriosin, *lactobacillus brevis*, *lactobacillus casei* dan *lactobacillus plantarum*

Antibacterial Activity Test Of Bacteriocin From *Lactobacillus Brevis*, *Lactobacillus Casei* And *Lactobacillus Plantarum* Against Gram Positive Pathogenic Bacteria

Narimo^{1*}, Rafika Sari¹, Pratiwi Apridamayanti¹

Department of Pharmacy, Medicine Faculty of Tanjungpura University

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak

Abstract: Bacteriocin is a secondary metabolite product of lactic acid bacteria (LAB) which is antimicrobial and potentially as a natural preservative. LAB isolates used in this study are *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. This study aims to determine the antibacterial activity of bacteriocin produced by each isolate of LAB including the influence of pH and heating variation against *Proteus mirabilis*, *Salmonella thypi* and *Pseudomonas aeruginosa*. Testing of antibacterial activity was done by using disc diffusion method. Confirmation test using proteolytic enzyme aims to know that the inhibition zone produced was activity of bacteriocin. The inhibitory zone produced by bacteriocin from *L. Brevis*, *L. Casei* and *L. Plantarum* against *Proteus mirabilis* were 15,70 mm; 16,40 mm and 14,5 mm, against *Salmonella thypi* were 13,36 mm; 14,10 mm and 12,53 mm and against *Pseudomonas aeruginosa* were 11,36 mm; 14,50 mm and 12,45 mm. The activity of each bacteriocin decreases with the addition of trypsin and catalase, bacteriocin was active in the range of pH 2-10 and heating 40-121°C. Statistical test result showed that the addition of trypsin and catalase and the variation of pH and heating had a significant effect ($P < 0.05$) to antibacterial activity produced by bacteriocin from *L. Brevis*, *L. Casei* and *L. Plantarum*.

Keywords: LAB, bacteriocin, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*

PENDAHULUAN

Pengawet (*Preservative*) adalah bahan tambahan pangan untuk mencegah kontaminasi pada makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme⁽¹⁾. Bahan pengawet makanan yang sering digunakan biasanya berupa senyawa-senyawa kimia. Senyawa kimia tersebut tentunya dapat mempengaruhi tubuh baik secara langsung maupun ketika terakumulasi⁽²⁾. Penggunaan pengawet dalam takaran yang tidak tepat ataupun terlalu sering dapat bersifat toksik dan membahayakan tubuh. Pengawet benzoat yang digunakan dalam jangka panjang dapat berefek negatif bagi tubuh, salah satunya yaitu kerusakan pada ginjal⁽³⁾. Meningkatnya kesadaran akan pentingnya kesehatan menyebabkan dibutuhkan suatu bahan pengawet alami yang lebih aman dan tidak membahayakan kesehatan. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk memproduksi bahan pengawet alami yang dikenal sebagai bakteriosin. Bakteriosin yang dihasilkan dari bakteri asam laktat merupakan antibakteri yang bisa menjadi pilihan sebagai agen pengawet alami pada bahan pangan⁽⁴⁾. Bakteri asam laktat yang berasal dari genus *Lactobacillus* dan memiliki potensi menghasilkan bakteriosin beberapa diantaranya adalah *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Brevicin 37 merupakan bakteriosin yang diperoleh dari *Lactobacillus brevis* B37. Winny (2017) menyatakan bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus casei* yang diisolasi dari sotong kering stabil pada rentang pH 2 - 6 dan pada suhu 40°C dengan zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram sebesar 8,25 mm pada *E. coli* dan 12,8 mm pada *Staphylococcus aureus*. Aktivitas bakteriosin hilang dengan penambahan enzim tripsin dan berkurang dengan penambahan enzim katalase⁽⁵⁾. Sari (2016) bakteriosin dari *L. actobacillus plantarum* yang diisolasi dari "Ce Hun Tiau" minuman khas warga tionghoa Kota

Pontianak, menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram sebesar 8,07 mm, *Staphylococcus aureus* sebesar 11,43 mm dan *Salmonella typhi* sebesar 9,0 mm. Aktivitas bakteriosin akan hilang dengan penambahan enzim katalase⁽⁶⁾. Bakteriosin memiliki beberapa keunggulan dari bahan pengawet kimia yaitu merupakan senyawa protein yang mudah didegradasi enzim proteolitik dan tidak membahayakan organ pencernaan. Bakteriosin juga memberikan efek antimikroba tanpa menimbulkan perubahan cita rasa dan tampilan yang nyata pada produk yang dihasilkan sehingga dapat diaplikasikan dalam makanan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas bakteriosin terhadap bakteri patogen dan mengetahui kondisi optimum dari masing-masing bakteriosin terhadap pH dan pemanasan.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus brevis* yang telah diisolasi dari es pisang ijo⁽⁷⁾, *Lactobacillus casei* yang diisolasi dari sotong kering⁽⁸⁾ dan *Lactobacillus plantarum* yang telah diisolasi dari minuman ce hun tiau⁽⁶⁾. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini *beaker glass* (Iwaki Pyrex[®]), cawan petri (Iwaki Pyrex[®]), erlenmeyer (Iwaki Pyrex[®]), gelas ukur (Iwaki Pyrex[®]), tabung reaksi (Iwaki Pyrex[®]), autoklaf (Allamerican), Bunsen, *hot plate* (HP 10-2), inkubator (Mammert[®]), jangka sorong (Trickle Brand), jarum ose, kertas cakram, *Laminar Air Flow* (Minihelix II), mikropipet (Rainin E1019705K), dan oven (Mammert[®]).

B. Pembuatan Media

Sebanyak 68,2g MRS agar ditimbang dalam erlemeyer dalam 1000 ml akuades. Larutan diaduk dengan magnetik stirer sampai homogen. Medium dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih dengan hati-hati agar medium tidak melimpah dari erlemeyer. Selanjutnya, dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada

suhu 121°C selama 15 menit, tekanan 1 atm. Terakhir medium didinginkan dan dituangkan di dalam petri dish.

C. Peremajaan BAL

Isolat *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* ditumbuhkan pada media *De Man Rogosa Sharp Agar* (MRSB) dengan metode *streaking* dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam, kemudian diambil satu koloni yang dianggap sebagai koloni bakteri asam laktat dan dimasukkan *De Man Rogosa Sharp Broth* (MRSB). Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam⁽¹⁰⁾.

D. Pengambilan Bakteriosin

Kultur *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* masing-masing diinokulasikan ke MRS cair kemudian divortex hingga homogen, dan setelah itu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit menggunakan alat mikro sentrifugasi berpendingin. Filtrat dinetralkan hingga pH 7,0 menggunakan pH meter dengan menambahkan larutan NaOH 1N. Filtrat disterilkan dengan filter bakteriberdiameter 0,22 µm ke dalam tabung steril untuk memperoleh supernatan antibakteri.

E. Uji aktivitas bakteriosin terhadap bakteri patogen *salmonella thypi*, *proteus mirabilis* dan *pseudomonas aeruginosa*

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator menggunakan metode difusi agar. Kertas cakram steril berdiameter 5 mm dicelupkan pada supernatan bakteriosin. Kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang mengandung bakteri uji (*Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Diameter zona bening yang dihasilkan disekitarkertas cakram diukur

dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C⁽⁶⁾.

F. Uji sensitivitas bakteriosin terhadap enzim proteolitik

Sebanyak masing-masing 250 µL supernatan bakteriosin dari *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* dicampur dengan 750 µL enzim konsentrasi 1 mg/mL dilarutkan dalam dapar pospat pH 7,6 untuk enzim tripsin dan dapar pospat pH 7 untuk enzim katalase kemudian diinkubasi selama 5 jam pada suhu 25°C. Filtrat disterilkan dengan filter Millipore berdiameter 0,22 µm kedalam tabung steril. Kertas cakram steril berdiameter 5 mm dicelupkan pada campuran enzim dan supernatan bakteriosin. Kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang mengandung bakteri uji (*Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Diameter zona bening yang dihasilkan disekitar kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C.

G. Pengaruh pH terhadap aktivitas bakteriosin

Sebanyak masing-masing 5 ml larutan bakteriosin dari *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* pada tabung yang berbeda, masing-masing diatur pH nya pada pH2, pH4, pH6, pH8, dan pH10 menggunakan larutan NaOH atau HCl 1 N. Setelah diinkubasi selama 4 jam pada suhu kamar, selanjutnya aktivitas bakteriosin diuji menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri uji (*Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*)⁽¹¹⁾.

H. Pengaruh Suhu terhadap aktivitas bakteriosin

Sebanyak masing-masing 5 ml supernatan bakteriosin dari *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* dipanaskan pada suhu 40°C, 60°C, 80°C, dan 100°C selama

30 menit di *waterbath thermostatic* dan 121°C selama 15 menit di autoklaf⁽¹²⁾. Aktivitas bakteriosin kemudian diuji menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri uji (*Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*)

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi* bertujuan untuk melihat aktivitas bakteriosin dalam menghambat bakteri patogen yang sering ditemukan dalam bahan makanan dan minuman yang dapat menyebabkan gangguan pada pencernaan. Zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau terhadap *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Bakteriosin

Bakteriosin	Diameter Zona Hambat (mm) x±SD		
	<i>P.mirabilis</i>	<i>S.thypi</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<i>L.brevis</i>	15,70±0,20	13,36±0,15	11,36±0,15
<i>L.casei</i>	16,40±0,15	14,10±0,10	14,50±0,20
<i>L.plantarum</i>	14,50±0,10	12,53±0,15	12,45±0,10

Keterangan: X = rata-rata SD = Standar Deviasi

Hasil tersebut menunjukkan bahwa masing-masing bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *Lactobacillus casei* asal sotong kering dan *Lactobacillus plantarum* asal ce hun tiau memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji yaitu *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi*. Dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Ogunbawo (2003) yang menyatakan bahwa bakteriosin dari *L. brevis* OG1 menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella typhi*⁽¹³⁾. Sari (2016) bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari “Ce Hun Tiau”

minuman khas warga tionghoa Kota Pontianak, menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* sebesar 9,0 mm⁽⁶⁾. Hasil penelitian juga sama dengan penelitian Aditya (2012) yang menyatakan bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus casei shirota* yang dapat menghambat bakteri *Salmonella typhi* dengan zona hambat 11.1mm dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat 8.85mm⁽¹⁴⁾.

Uji Sensitivitas Antimikroba terhadap Enzim Proteolitik

Bakteriosin yang dihasilkan oleh supernatan diuji aktivitasnya terhadap penambahan enzim-enzim yang terdiri dari enzim tripsin dan enzim katalase. Tujuan dari uji sensitivitas antimikroba terhadap enzim proteolitik adalah memastikan bahwa supernatan yang dihasilkan merupakan bakteriosin. Bakteriosin merupakan protein yang mudah terdegradasi oleh adanya enzim proteolitik sehingga aman digunakan sebagai agen biopreservatif pada bahan pangan. Hasil uji sensitivitas antimikroba terhadap enzim proteolitik disajikan pada gambar berikut ini:

Berdasarkan hasil penelitian, masing-masing bakteriosin dari *L. brevis*, *L. casei* dan *L. plantarum* aktivitas antibakterinya berkurang ketika ditambahkan dengan enzim tripsin dan enzim katalase. Hal ini dilihat dari zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari zona hambat kontrol bakteriosin tanpa penambahan enzim namun zona hambat yang terbentuk pada ketiga bakteriosin dengan penambahan enzim katalase lebih besar dari zona hambat ketiga bakteriosin ketika ditambahkan dengan enzim tripsin. Adapun diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Bakteriosin dengan Penambahan Enzim Proteolitik pada Bakteri *P.mirabilis*

Perlakuan	Zona Hambat (mm) ±SD (<i>P.mirabilis</i>)		
	<i>L. brevis</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>

Kontrol Bakteriosin	12.06±0.30	13.36±0.41	12.90±0.10
Bakteriosin +Tripsin	9.10±0.90	7.46±0.15	9.43±0.07
Bakteriosin +Katalase	10.86±0.90	10.60±0.15	10.16±0.07

Keterangan: x = rata-rataSD = Standar Deviasi

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Bakteriosin dengan Penambahan Enzim Proteolitik pada Bakteri *S. thypi*

Perlakuan	Zona Hambat (mm) ±SD (<i>S.thypi</i>)		
	<i>L. brevis</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>
Kontrol Bakteriosin	12.80±0.20	12.40±0.40	12.55±0.153
Bakteriosin + Tripsin	9.50±0.20	10.20±0.20	7.25±0.53
Bakteriosin +Katalase	10.63±0.15	11.80±0.20	10.40±0.20

Keterangan: x = rata-rataSD = Standar Deviasi

Tabel 5. Diameter Zona Hambat Bakteriosin dengan Penambahan Enzim Proteolitik pada Bakteri *P.aeruginosa*

Perlakuan	Zona Hambat (mm) ±SD (<i>P.aeruginosa</i>)		
	<i>L. brevis</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>
Kontrol Bakteriosin	11.46±0.4	11.60±0.52	12.33±0.3
Bakteriosin + Tripsin	9.60±0.55	9.35±0.15	9.46±0.50
Bakteriosin +Katalase	10.60±0.5	10.40±0.20	11.20±0.2

Keterangan: x = rata-rataSD = Standar Deviasi

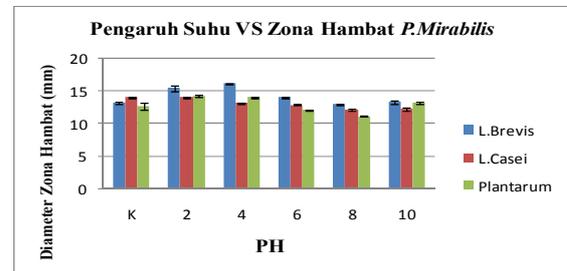
Hasil pada penelitian ini sama dengan penelitian Duraisamy (2015) yang menyatakan bahwa brevicin dari *Lactobacillus brevis* NS01 masih memiliki aktivitas pada penambahan enzim katalase⁽¹⁵⁾. Hasil penelitian juga sama dengan penelitian Vignolo (1993) yang menyatakan senyawa antibakteri dari *Lactobacillus casei* CRL705 masih memiliki aktivitas dengan penambahan enzim katalase⁽¹⁶⁾. Penelitian Gong et al. (2010) menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 yang diisolasi dari Jiaoke kehilangan sedikit aktivitasnya ketika ditambahkan enzim katalase⁽¹⁷⁾. Hasil uji statistik yang terlampir pada Lampiran10 menunjukkan bahwa penambahan enzim tripsin dan katalase berpengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es

pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau.

Optimasi Aktivitas Bakteriosin terhadap pH

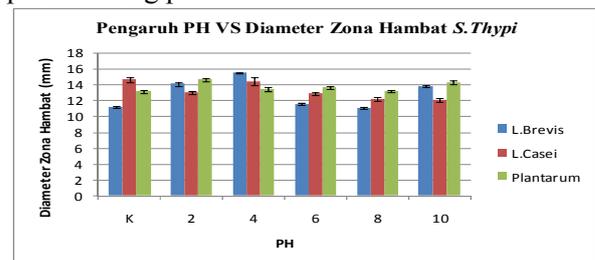
Optimasi aktivitas bakteriosin dengan variasi pH terhadap isolat bakteri asam laktat (BAL) bertujuan untuk melihat ketahanan isolat terhadap kondisi pada berbagai pH yang terdiri dari rentang pH asam hingga basa meliputi pH2, pH4, pH6, pH8 dan pH10.

Adapun diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada grafik pada Gambar 20-22.



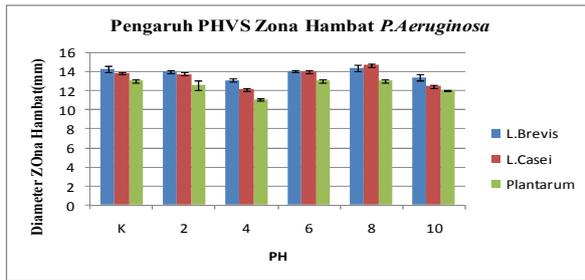
Gambar 1. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosin dalam Berbagai Kondisi pH pada Bakteri *P.Mirabilis*

Keterangan: K= Kontrol bakteriosin pH netral (pH 7). Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *P.mirabilis* tetap ada pada rentang pH 2-10.



Gambar 2. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosin dalam Berbagai Kondisi pH pada Bakteri *S.Thypi*

Keterangan: K= Kontrol bakteriosin pH netral (pH 7). Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *S.thypi* tetap ada pada rentang pH 2-10.



Gambar 3. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosin dalam Berbagai Kondisi pH pada Bakteri *P.aeruginosa*

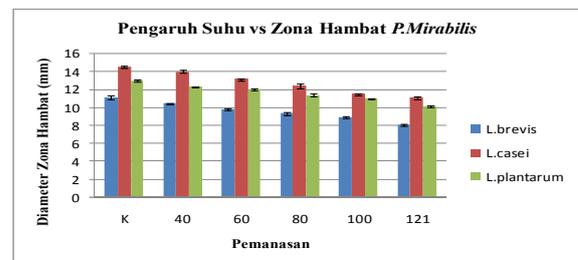
Keterangan: K= Kontrol bakteriosin pH netral (pH 7). Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *P.aeruginosa* tetap ada pada rentang pH 2-10.

Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa masing-masing bakteriosin *Lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *Lactobacillus casei* asal sotong kering dan *Lactobacillus plantarum* asal ce hun tiau menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P.mirabilis*, *S.thypi* dan *P.aeruginosa* pada rentang pH yang luas yaitu pH 2 hingga pH 10. Hasil penelitian berbeda sedikit dengan penelitian Ogunbawo (2003) yang menyatakan bahwa *Lactobacillus brevis* OG1 stabil pada pH 2-8 sedangkan *Lactobacillus plantarum* F1 stabil pada rentang pH 2-6. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Gautam (2009) yaitu bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* MTCC 7539 menunjukkan aktivitas antibakteri pada rentang pH 3 hingga pH 10⁽¹⁸⁾. Hasil penelitian juga sama dengan penelitian Ullah et al. (2017) yang menyatakan bahwa Lin333, bakteriosin dari *Lactobacillus casei* yang diisolasi dari Jiangshui Cai (sayuran fermentasi dari China) menunjukkan aktivitas antibakteri pada rentang pH yang luas yaitu pH 3 hingga pH 9⁽¹⁹⁾. Hasil uji statistik yang

terlampir pada Lampiran 10 menunjukkan bahwa perbedaan pH berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau terhadap *P.mirabilis*, *S.thypi* dan *P.aeruginosa*.

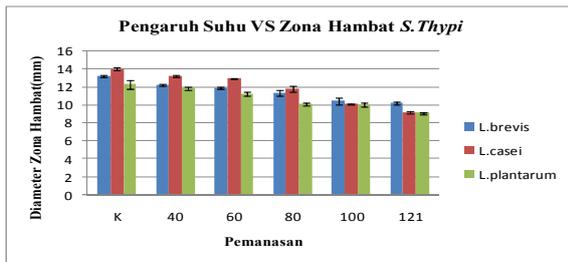
Optimasi Aktivitas Bakteriosin terhadap Pemanasan

Optimasi aktivitas bakteriosin terhadap pemanasan bertujuan untuk mengetahui kestabilan bakteri asam laktat (BAL) pada berbagai suhu pemanasan. Proses pengawetan pada bahan pangan terkadang melibatkan pemanasan sehingga perlu diketahui kestabilan bakteriosin yang diperoleh dari *Lactobacillus brevis* pada berbagai suhu pemanasan. Suhu pemanasan yang digunakan meliputi 40°C, 60°C, 80°C, 100°C dan 121°C. Zona hambatan bakteriosin dalam berbagai pemanasan dapat dilihat pada Gambar dibawah ini:



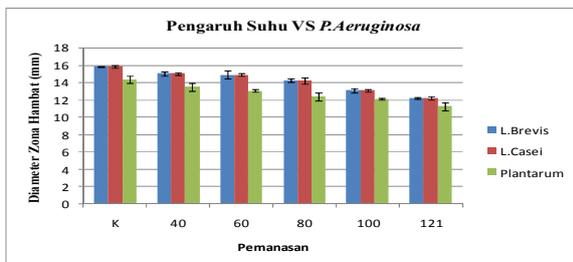
Gambar 4. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosin dalam Berbagai Kondisi Pemanasan pada Bakteri *P.Mirabilis*

Keterangan: K = Kontrol bakteriosin tanpa pemanasan. Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *P.Mirabilis* tetap ada pada rentang pemanasan 40-121°C.



Gambar 5. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosindalam Berbagai Kondisi Pemanasan pada Bakteri *S.thypi*

Keterangan: K = Kontrol bakteriosin tanpa pemanasan. Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *S.Thypi* tetap ada pada rentang pemanasan 40-121°C.



Gambar 6. Grafik Diameter Zona Hambat Bakteriosindalam Berbagai Kondisi Pemanasan pada Bakteri *P.aeruginosa*

Keterangan: K = Kontrol bakteriosin tanpa pemanasan. Aktivitas antibakteri masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau pada bakteri *P.Aeruginosa* tetap ada pada rentang pemanasan 40-121°C. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau menunjukkan aktivitas antibakteri pada pemanasan 40-100°C selama 30 menit hingga 121°C selama 15 menit. Hasil yang sama dilaporkan Ogunbawo (2003) bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* F1 dan *Lactobacillus brevis* OG1 masih menunjukkan aktivitas pada pemanasan suhu 100 °C selama 10–30 menit dan

pemanasan pada suhu 121 °C selama 10–60 menit. Produksi masing-masing bakteriosin dari *L. brevis* asal es pisang ijo, *L. casei* asal sotong kering dan *L. plantarum* asal ce hun tiau perlu dioptimasi agar menghasilkan bakteriosin yang memiliki aktivitas optimum terhadap bakteri indikator. Optimasi bakteriosin dapat dilakukan dengan membuat kurva pertumbuhan yang merupakan hubungan antara jumlah sel dengan waktu pertumbuhan sehingga dapat diketahui fase pertumbuhan tertinggi dari bakteri asam laktat yang berhubungan dengan sekresi bakteriosin.

KESIMPULAN

1. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *lactobacillus Brevis* asal es pisang ijo, *lactobacillus Casei* dan *lactobacillus Plantarum* ce hun tiau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *proteus mirabillis*, *Salmonella thypi* dan *pseudomonas aeruginosa*.

2. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh *lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *lactobacillus casei* dan *lactobacillus plantarum* ce hun tiau berkurang dengan penambahan enzim tripsin dan katalase yang menunjukkan bahwa supernatant yang dihasilkan merupakan bakteriosin.

3. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *lactobacillus casei* dan *lactobacillus plantarum* ce hun tiau memiliki aktivitas pada rentang pH 2-10 dan suhu 40°C-121°C

SARAN

1. Perlunya dilakukan optimasi lebih lanjut mengenai kurva pertumbuhan masing-masing *lactobacillus Brevis* asal es pisang ijo, *lactobacillus Casei* dan *lactobacillus Plantarum* ce hun tiau untuk mengetahui fase setiap

pertumbuhan bakteri sehingga akan di dapatkan hasil yang optimal

2. Perlunya dilakukan purifikasi bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* ce hun tiau agar dihasilkan supernatan bakteriosin yang murni tanpa ada metabolit lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Peraturan Kepala Badan POM RI No. 36 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pengawet. Badan POM RI. Jakarta.2013.
2. Hilda N. Pengaruh pengawet benzoat terhadap kerusakan ginjal. Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera. 2015; 13(26): 14-21.
3. Suardana WI, Suarsana NI, Sujaya NI, Wiryawan KG. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari cairan rumen sapi bali sebagai kandidat biopreservatif.Jurnal Veteriner. 2007; 8(4): 155-159.
4. Jeeveratnam, K., M. Jamuna, A.S. Bawa.Biological *Preservation*-Bacteriosin of Lactid Acid. Indian Journal of Biotechnology. 2005;4: 446-454.
5. Andarilla W. Optimasi Aktivitas Bakteriosin Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus Casei* Dari Sotong Kering (Skripsi). Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2017. h30-41
6. Sari R, Deslianri L, Apridamayanti P. Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin Dari Minuman Ce Hun Tiau. Pharm Sci Res. 2016; 3(2): 88-96.
7. Syahputria F. Identifikasi bakteri asam laktat (BAL) penghasil bakteriosin dari es pisang ijo yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen (Skripsi). Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2016. h.48.
8. Yurinda OD. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Bakteriosin Dari Sotong Kering Yang Memiliki Aktivitas Terhadap Bakteri Patogen (Skripsi). Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2016. h.6,54.
9. Sidabutar AR, Feliatra dan Andi D. Uji aktivitas antimikroba bakteriosin dari bakteri probiotik yang diisolasi dari udang windu (*Penaeus monodon Fabricus*). Jurnal Online Mahasiswa Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan. 2015; 2(2): 1-13.
10. Pelczar MJ dan Chan ECS. Dasar-dasar mikrobiologi 1. Jakarta: UI Press; 2005. h.131

11. Kusmarwati A, Arief FR, Haryati S. Eksplorasi bakteriosin dari bakteri asam laktat asal Rusip Bangka dan Kalimantan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2014; 9(1): 29-40.
12. Saad MA, Abdelsamei HM, Ibrahim EMA, Abdou AM, El Sohaimy SA. Effect of pH, heat treatments and proteinase K enzyme on the activity of *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2015; 28(1): 210-215.
13. Ogunbanwo ST, Sanni AI, Onilude AA. Characterization of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OGI. *African Journal of Biotechnology*. 2003; 2(8): 219-227.
14. Mikael, Adytia. Pengaruh Pemberian Probiotik Terhadap Pertumbuhan Bakteri Intestinal secara Invitro. 2012.
15. Duraisamy S, et al. Optimization of *Lactobacillus brevis* NS01 brevicin production and its application in apple juice biopreservation using food grade clarifying agent silica as a carrier. New York: Springer Science; 2015.
16. Vignolo GM, Suriani F, Pesce de Ruiz Holgado A, Oliver G. Antibacterial Activity of *Lactobacillus* Strains Isolated from dry Fermented Sausages. *Journal of Applied Microbiology*. 1993; 74(4): 344-9.
17. Gong HS, Meng XC, Wang H. Plantaricin MG Active Against Gram Negative Bacteria Produced By *Lactobacillus Plantarum* KLDS.0391 Isolated From "Jiaoke", A Traditional Fermented Cream From China. *Elsevier Food Control*. 2010; 21: 89-96
18. Gautam N, Sharma N. Purification and Characterization of Bacteriocin Produced by Strain of *Lactobacillus Brevis* MTCC 7539. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 2009; 46(4): 337-41.
19. Ullah et al. Purification And Primary Characterization of A Novel Bacteriocin, LiN333, From *Lactobacillus Casei*, in Isolate From a Chinese Fermented Food. *Food Science and Technology*. 2017; 84: 867-875.