ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTI MIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT DARI FERMENTASI NIRA KELAPA SAWIT

Isolation and Anti Microbial Activity of Lactic Acid Bacteria from Fermented Palm Oil Sap

Edy Fachrial*, Adrian, Harmileni

*Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia,
Fakultas Agro Teknologi, Universitas Prima Indonesia

*Corresponding author: E-mail: fachrial_edy@yahoo.co.id

Abstrak

Tujuan penelitian adalah untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) dari nira kelapa sawit dan mempelajari aktivitas anti mikroba BAL terhadap bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram. Sampel air nira di-enrichment dengan menggunakan media spesifik MRS (*Man Rogosa Sharpe*) broth selama over night lalu dilakukan pengenceran bertingkat dan kultur disebar ke permukaan MRS agar lalu diinkubasi selama 48 jam. Hasil isolasi menunjukkan BAL dari air nira kelapa sawit adalah sebanyak $1,4 \times 10^7$ CFU/mL. Sebanyak 6 koloni BAL tunggal dipilih secara acak (EHN1, EHN2, EHN3, EHN4, EHN5 dan EHN6) untuk diremajakan pada media MRS agar. Koloni BAL yang dipilih tergolong Gram positif berbentuk basil dan katalase negatif. Aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Aktivitas antimikroba EHN1, EHN2 EHN3, EHN4, EHN5 dan EHN6 terhadap *E. coli* dan *S. aureus* secara berturut-turut adalah 12 mm; 9 mm; 11 mm; 11 mm; 10,5 mm; 12,2 mm dan 13,5 mm; 11 mm; 12 mm; 11,5 mm; 12 mm; 12,5 mm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari air nira kelapa sawit memiliki aktivitas antibakteri dan berpotensi sebagai probiotik.

Kata Kunci: Bakteri asam laktat (BAL), nira, anti mikroba, probiotik

Abstract

The aim of the study was to isolate lactic acid bacteria (LAB) from palm oil sap and to investigate the anti microbial activity of LAB against pathogen bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using disc diffusion method. Palm oil sap were enriched using spesific medium MRS (*Man Rogosa Sharpe*) broth overnight, serial dilution were conducted and the culture were spread on the surface of MRS agar and then incubated for 48 hours. The result showed the total colonies of LAB were $1,4 \times 10^7$ CFU/mL. 6 colonies were randomly selected namely EHN1, EHN2, EHN3, EHN4, EHN5 and EHN6. The selected colonies are classified as Gram positive and bacilli in morphology. Antimicrobial activity against pathogenic bacteria was investigated using disc diffusion method. Antimicrobial activity of isolates against *E.coli* and *S.aureus* were 12,2 mm; 9mm; 11mm; 11mm; 10,5mm; 12 mm dan 13,5mm; 11mm; 12mm; 11,5mm; 12mm; 12,5mm respectively. from these result it can be concluded that LAB isolated from oil palm sap has potential as probiotic.

Keywords: Lactic acid bacteria, oil palm sap, antimicrobial activity, probiotic

How to Cite: Fachrial, E., Adrian, Harmileni. 2018, Isolasi Aktivitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit, *BioLink*, Vol. 5 (1): Hal. 51-58

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) telah sering digunakan selama ribuan tahun dalam fermentasi makanan dan produksi alkohol. BAL menghasilkan berbagai macam senyawa seperti asam organik, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin atau protein bakterisida selama fermentasi laktat (Sivasakthivelan et al, 2013). Deskripsi umum BAL adalah merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak menghasilkan spora, tidak menghasilkan katalase, berbentuk kokus atau batang dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir selama fermentasi karbohidrat. Yang tergolong BAL adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* (Kadere dan Kutima, 2012). Bakteriosin BAL dapat digolongkan sebagai *Generally Recognized as Safe* (GRAS), sehingga mendapat perhatian yang signifikan dalam mengontrol bakteri patogen pada makanan (Cizeikiene et al, 2013). Sebagian BAL digolongkan sebagai probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai suatu mikroba hidup yang ditambahkan ke dalam makanan berupa suplemen yang memberikan efek menguntungkan pada inang (host) dengan cara meningkatkan keseimbangan mikroflora. Syarat minimal suatu bakteri bersiat probiotik adalah (1) termasuk *Generally Recognized as Safe* (GRAS), (2) toleran terhadap garam empedu dan asam, (3) memiliki sifat

antagonis terhadap bakteri patogen dan (4) dapat menjaga viabilitas selama proses penyimpanan (Khalil et al, 2012). BAL pada umumnya dapat diisolasi dari berbagai sumber terutama hasil fermentasi, beberapa diantaranya adalah dadih, makanan tradisional fermentasi berbahan dasar susu kerbau (Syukur et al, 2016), akamu dan kunun zaki (makanan tradisional berbahan dasar sereal asal Nigeria) (Okpara et al, 2014), bekasam (Sari et al, 2018) dan fermentasi air kelapa (Kadere dan Kutima, 2012). Kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) merupakan salah satu tanaman komoditi di negara tropis yang berkembang seperti Malaysia, Indonesia dan Thailand. Minyak kelapa sawit adalah minyak yang paling banyak diproduksi hingga 4,3 juta ton pada tahun 2008. Nira sawit adalah cairan berupa getah yang dihasilkan oleh pohon sawit yang sudah tidak produktif dan ditebang. Nira sawit mengandung sejumlah besar glukosa hingga mencapai 86,9% (Chooklin et al, 2011).

Di Sumatera Utara, sawit yang sudah tidak produktif hanya di tebang dan dibiarkan begitu saja. Nira sawit yang dihasilkan oleh pohon yang tidak produktif tersebut hanya terbatas digunakan untuk memproduksi gula merah, dan sampai saat ini belum ada penelitian yang mempelajari bagaimana karakteristik BAL yang terkandung di

dalam nira sawit. Dalam penelitian ini, kami mengisolasi BAL dari nira sawit lalu menguji aktivitas antimikroba BAL tersebut terhadap bakteri patogen *E.coli* dan *S.aureus*.

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Sebanyak 100 mL sampel nira sawit dikumpulkan langsung dari petani sawit dengan menggunakan botol kaca steril dan dibawa ke laboratorium pada hari yang sama untuk diproses. Sampel kemudian disimpan dalam suhu ruang selama 48 jam untuk fermentasi

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Nira Sawit

BAL diisolasi dengan menggunakan media pertumbuhan spesifik MRS broth dan MRS agar. Sebanyak 1 mL fermentasi nira sawit di tambahkan ke dalam 9 mL MRS broth steril di dalam tabung reaksi dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dalam kondisi anaerob. Setelah itu dilanjutkan dengan proses pengenceran bertingkat. Sebanyak 0,1 mL nira sawit dicampurkan dengan 0,9 mL MRS broth steril dalam microtube 1,5 mL lalu dihomogen kan dengan cara di bolak balik. Ini disebut pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 0,1 mL dari pengenceran 10^{-1} dicampur dengan 0,9 mL MRS broth steril, ini disebut pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilanjutkan hingga 10^{-7} . Sebanyak 0,1mL

dari pengenceran 10^{-7} disebarkan ke permukaan MRS agar di cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Pekerjaan dilakukan pada kondisi steril di dalam *laminar air flow*. Setelah 48 jam, total koloni BAL dihitung dengan menggunakan rumus :

$$CFU = \text{total koloni BAL} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{volume sampel}}$$

Karakteristik Biokimia

Sebanyak 6 koloni BAL dipilih secara acak yaitu EHS1, EHS2, EHS3, EHS4, EHS5, dan EHS6. Karakteristik biokimia dilakukan dengan melakukan Gram staining, uji katalase dan tipe fermentasi.

Aktivitas Antimikroba BAL Terhadap Bakteri Patogen

Aktivitas antimikroba setiap isolat terpilih terhadap bakteri patogen (*E.coli* dan *S.aureus*) dilakukan dengan metode difusi cakram. 1 ose setiap isolat di kultur ke 9 mL MRS broth steril dan diinkubasi secara anaerob. Bakteri patogen (*E.coli* dan *S.aureus*) di kultur ke 9 mL nutrient broth steril. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, bakteri patogen disebar ke permukaan nutrient agar menggunakan kapas steril. Isolat BAL disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit untuk memperoleh supernatan. Cakram kertas (diameter 5 mm) dicelupkan ke dalam supernatan dan diletakkan ke permukaan

nutrient agar dengan menggunakan pinset. Setelah 24 jam inkubasi, zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi BAL dari Nira Sawit

Setelah diinkubasi secara anaerob selama 48 jam pada suhu 37 °C, diperoleh total koloni BAL dari 1 mL nira sawit adalah $1,4 \times 10^7$, pertumbuhan koloni BAL pada media spesifik *Lactobacillus* MRS agar ditunjukkan pada gambar 1.

Gambar 1. Pertumbuhan BAL yang diisolasi dari nira sawit pada media MRS agar

Salah satu kriteria suatu BAL diklasifikasikan sebagai probiotik jika

mengandung paling sedikit 10^6 CFU/g mikroorganisme probiotik yang aktif dan hidup pada saat dikonsumsi (WHO, 2002). Khalil dan Anwar (2016) dalam penelitiannya melaporkan bahwa terdapat perbedaan jumlah total koloni berdasarkan kondisi inkubasi aerob dan anaerob. Total koloni BAL anaerob pada sampel susu berkisar antara $1,1 \times 10^5$ hingga $7,2 \times 10^8$ CFU/mL, sementara pada kondisi aerob jumlah koloni adalah $6,1 \times 10^5$ hingga $5,3 \times 10^7$ CFU/mL (Khalil dan Anwar, 2016). Dalam penelitian lain dilaporkan bahwa total koloni BAL yang berpotensi probiotik yang diisolasi dari dadih adalah sebanyak $8,4 \times 10^8$ CFU/mL (Syukur *et al*, 2016). Berdasarkan jumlah total koloni BAL yang diisolasi dari nira sawit tersebut, maka BAL tersebut berpotensi sebagai probiotik.

Karakteristik Biokimia

Karakteristik biokimia setiap isolat ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Biokimia BAL berdasarkan Gram staining, Jenis fermentasi dan uji katalase

Isolat BAL	Karakteristik Biokimia		
	Gram staining	Jenis fermentasi	Uji Katalase
EHS1	Positif	homofermentatif	negatif
EHS2	Positif	homofermentatif	negatif
EHS3	Positif	homofermentatif	negatif
EHS4	Positif	homofermentatif	negatif
EHS5	Positif	homofermentatif	negatif
EHS6	Positif	homofermentatif	negatif

Goyal *et al* (2012) dalam penelitiannya mengenai karakterisasi

Lactobacillus yang diisolasi dari berbagai produk keju melaporkan hasil yang sama. Dari sampel yang di ujikan, sebanyak 28 strain yang diduga BAL, diamati pada permukaan MRS agar. Sebagian besar koloni berwarna putih atau krim. Dari hasil Gram staining diperoleh hasil semua isolat adalah Gram positif berbentuk batang atau kokus serta katalase negatif. Dalam penelitiannya, Prasirtsak *et al* (2013) melaporkan sebanyak 10 isolat BAL yang diisolasi dari tanah dan berbagai akar tanaman di Bangkok, menunjukkan Gram positif dan katalase negatif. Semua isolat BAL memfermentasi glukosa secara

homofermentasi dan tidak menghasilkan gas dari glukosa. Hasil yang sama dilaporkan oleh Devi *et al* (2013), yang melaporkan seluruh BAL yang diisolasi dari yoghurt menunjukkan warna ungu saat pewarnaan.

Aktivitas Antimikroba BAL

Penentuan aktivitas antimikroba isolat BAL yang terpilih terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram. Diameter zona hambat isolat BAL terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Zona hambat isolat BAL terhadap bakteri patogen

Isolat BAL	Zona hambat (mm)	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
EHS1	13,5	12,2
EHS2	11	9
EHS3	12	11
EHS4	11,5	11
EHS5	12	10,5
EHS6	12,5	12

Dari tabel 2 terlihat bahwa semua isolat BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, dengan zona hambat terhadap *S.aureus* lebih besar daripada *E.coli*. Isolat EHS1 memberikan aktivitas antimikroba terkuat terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

Gambar 3. Zona hambat isolat BAL terhadap: (a) *E.coli* dan (b) *S.aureus*

Berdasarkan hasil di atas, zona hambat terhadap *S.aureus* (Gram positif) lebih besar daripada *E.coli* (Gram negatif). Hasil yang sama dilaporkan oleh Ravindran *et al* (2016) yang melaporkan bahwa aktivitas antimikroba BAL terhadap *S.aureus* lebih besar daripada *E.coli*. Dijelaskan dalam penelitiannya zona hambat *S.aureus* dengan sampel *Lactobacillus bulgaricus* adalah 8,5 mm, dibandingkan dengan zona hambat *E.coli* 1,5 mm. Zona hambat BAL pada peneltia ini lebih besar dibandingkan hasil yang dilaporkan oleh El-Shenawy *et al* (2017). El-Shenawy *et al* (2017) dalam penelitiannya melaporkan aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari berbagai sumber meliputi susu mentah dan susu fermentasi, keju, dan sosis, dengan rentang zona hambat antara 6 mm hingga 11 mm, terhadap bakteri patogen. Bolanle *et al* (2015) melaporkan BAL yang diisolasi dari kotoran sapi dapat

menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E.coli*, *Klabsiella* dan *S.aureus* dengan rentang zona hambat dari 7 mm hingga 11 mm. Aktivitas antimikroba BAL disebabkan oleh produksi senyawa-senyawa antimikroba yang meliputi produksi asam laktat dan penurunan pH, produksi asam asetat, diasetil, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Ravindran *et al*, 2016). BAL memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan energi, menggunakan sumber karbon endogen sebagai akseptor elektron. BAL juga aerotolerant, dan terlindungi terhadap produk akhir oksigen seperti hidrogen peroksida. Bakteriosin adalah suatu peptida antimikroba yang diproduksi oleh beberapa mikroorganisme seperti BAL dan mempunyai sifat stabil pada suhu 100°C, berat molekul rendah (<10 kDa) dan memiliki spektrum luas (Mokoena, 2017). Mekanisme antimikroba bakteriosin adalah berinteraksi dengan

membran sel target dan membentuk pori, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat pembentukan dinding sel target (Toomula *et al*, 2011).

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa nira sawit dapat menghasilkan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik, yang ditunjukkan dengan aktivitas antimikroba spektrum luas terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Untuk penelitian lanjutan perlu dipelajari bagaimana resistensi BAL dari nira sawit ini terhadap kondisi pH rendah dan toleransi terhadap *bile salt*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada DRPM Kemristekdikti atas hibah penelitian dosen pemula (nomor kontrak 197/K1.1/LT.1/2018) hingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Prima Indonesia atas dukungan dan fasilitas selama penelitian dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

Bolanle A, Adeniyi, Adewale A, Funmilola A, Ayeni. (2015). Antibacterial activities of lactic acid bacteria isolated from cow faeces against potential pathogens. *African Health Sciences*. 15 (3) : 888-895

Chooklin, S., Kaewischan and Kaewischan, J. (2011). Potential Utilization of Sap from Oil palm (*Elaeis guineensis*) for Lactic Acid

Production by *Lactobacillus casei*. *Journal of Sustainable Energy & Environment*. 2 : 99-104

Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A., Bartkiene, E. (2013). Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria against Pathogenic and Spoilage Microorganism Isolated from Food and Their Control in Wheat Bread. *Food Control*. 31(2) : 539-545

Devi, M., Rebecca, S., Sumathy. (2013). Bactericidal activity of the lactic acid bacteria *Lactobacillus delbruekii*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 5(2) : 176-180

El-Shenawy, M., Dawoud, EI., Amin, GA., Al-Shafei, K., Fouad, MT., Soriano, JM. (2017). Antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from local environment in Egypt. *African Journal of Microbiology Research*. 11(8) : 327-334

Goyal, R., Dhingra, H., Bajpai, P., Joshi, N. (2012). Characterization of the *Lactobacillus* from different curd samples. *Afr.J.Biotechnol*. 11(79) : 14448-14452

Khalil, AA., Shehata, MG., El-Banna, AA., Sahar F Deraz., Malak A., El-Sahn. (2012). *Alex.J.Fd.Sci.&Technol*. 9(1) : 17-31

Khalil, I dan Anwar, N. (2016). Isolation, Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Milk and Yoghurts. *Research & Reviews : Journal of Food and Dairy Technology*. 4(2) : 21-25

Kadere, TT dan Kutima, PM. (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in Coconut Toddy (Mnazi). *Journal of Asian Scientific Research*. 2(12) : 807-819

Mokoena, MP. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Application against Uropathogens : A Mini-Review. *Molecules*. 22(8) : 1-13

Okpara, AN., Okolo, BN., Ugwuanyi, JO. (2014). Antimicrobial activities of lactic acid bacteria isolated from akamu and kunun-zaki (cereal based non-alcoholic beverages) in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. 13(29) : 2977-2984

Prasirtsak, B., Tanasupawal, S., Boonsombat, R., Kodama, K., Thongchul, N. (2013). Characterization of Lactic acid bacteria

- from Thai sources. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3(1) : 33-38
- Ravindran, L., Manjunath, N., Darshan, RP., Manuel, SGA. (2016). In vitro study analysis of antimicrobial properties of lactic acid bacteria against pathogens. *J.Bio.Innov.* 5(2) : 262-269
- Sari, M., Suryanto, D., Yurnaliza. (2018). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Bekasam against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella* sp. *IOP Conference Series : Earth and Environment Science*. 130(1) : 1-7
- Toomula, N., Kumar D S., Kumar R A., Hindu H K, Raviteja Y. (2011). Bacteriocin Producing Probiotic Lactic Acid Bacteria. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 3 (5) : 121-124
- Saranraj, P., Naidu, MA., Sivasakthivelan, P. (2013). Lactic Acid Bacteria and its Antimicrobial Properties: A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 4(6) : 1124-1133
- Syukur, S., Fachrial, E., Jamsari. (2016). Isolation, Antimicrobial Activity and Protein bacteriocin Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Dadih in Solok, West Sumatera, Indonesia. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 5(6) : 1096-1104
- World Health Organization. (2011). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 1-11.