**AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI
DARI MAKANAN TRADISIONAL FERMENTASI KHAS BATAK
“NANIURA”**

***ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM
BATAK TRADITIONAL FERMENTED FOOD “NANIURA”***

**Aloysius¹, Anjurniza Ulfa¹, Anggita Kasih Fianti Situmorang¹, Harmileni²,
Edy Fachrial^{3*}**

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia, Medan

²Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Teknologi Kimia Industri, Medan

³Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia, Medan

Diterima : 02-01-19; Disetujui : 26-04-19; Diterbitkan : 12-08-19

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

Abstrak

Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat diisolasi dari berbagai produk makanan fermentasi. Salah satu sumber potensial BAL adalah dari makanan tradisional yang berbasis fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengevaluasi aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari makanan tradisional khas Batak, “naniura”. Isolat BAL yang telah diisolasi dikarakterisasi berdasarkan pewarnaan Gram, tipe fermentasi dan uji katalase. Untuk pengujian aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen digunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 6 isolat BAL yang dipilih secara acak yang diisolasi dari naniura yaitu BN1, BN2, BN3, BN4, BN5 dan BN6 mempunyai karakteristik Gram positif, berbentuk batang dan katalase negatif. Semua isolat terpilih mempunyai tipe fermentasi heterofermentasi. Sebanyak 4 isolat (BN1, BN2, BN5 dan BN6) dari 6 isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhi* dengan diameter zona hambat berkisar 6,9 cm hingga 12,3 cm. Berdasarkan hasil tersebut maka disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari naniura berpotensi sebagai sumber probiotik.

Kata Kunci: Aktivitas Antimikroba, Bakteri Asam Laktat, Naniura, Probiotik

Abstract

*Lactic acid bacteria (LAB) could be isolated from various fermented food products. One potential source of LAB is traditional fermented food. The aim of the study was to isolate and investigate antimicrobial activity of LAB isolated from traditional Batak food, “naniura”. The LAB isolates were characterized by Gram staining, fermentation type and catalase test. The investigation of antimicrobial activity of LAB against pathogenic bacteria were conducted using disc diffusion method. The results showed that 6 isolates of BAL were successfully isolated namely BN1, BN2, BN3, BN4, BN5 and BN6 had characteristics of Gram positive, rod shaped and catalase negative. All selected isolate have heterofermentation type. Four isolates (BN1, BN2, BN5 and BN6) were able to inhibit *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhi* with inhibition zone diameters ranging from 6,9 to 12,3 cm. Based on the result, it was concluded that LAB isolated from naniura has potential as a source of probiotics.*

Key Words: Naniura, Lactic Acid Bacteria, Antimicrobial activity, Probiotics

How to Cite: Aloysius, Ulfa, A., Situmorang, A.K.F., Harmileni, Facrial, Edy. (2019). Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Makanan Tradisional Fermentasi Khas Batak “Naniura”, *BioLink : Jurnal Biologi Lingkungan, Industri dan Kesehatan*, Vol.6 (1): Hal. 8-15

PENDAHULUAN

Naniura merupakan salah satu boga budaya etnis yang menyebut dirinya "Halak Hita" (suku Batak). Naniura adalah makanan khas suku Batak yang berbeda dari makanan tradisional lainnya. Hal mendasar yang menjadi sebuah perbedaan besar dari Naniura yaitu jika makanan lainnya terdapat proses pemasakan baik direbus, dikukus, digoreng ataupun dibakar, tapi naniura tidak melalui proses pemasakan. Prinsip pembuatan naniura adalah merendam ikan mas dengan rendaman jeruk jungga atau asam dan dibiarkan beberapa jam (Manalu, 2009). Penggunaan asam dalam proses pembuatan naniura bertujuan sebagai antimikroba. pH yang rendah pada pangan ($<4,5$) mampu menghambat pertumbuhan patogen, sehingga makanan dapat disimpan lebih lama dibandingkan makanan dengan pH netral. Bakteri yang terdapat pada ikan air tawar pada umumnya adalah *Aeromonas*, *Lactobacillus* dan *Streptococcus* (Febrian et al, 2016). Genus *Lactobacillus* dikenal memiliki manfaat bagi kesehatan manusia terutama untuk saluran pencernaan. Efek menguntungkan dari genus *Lactobacillus* termasuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Shigella* dan *Helicobacter*. Selain itu *Lactobacillus* juga bermanfaat terhadap reduksi laktosa intoleran (Maragkoudakis

et al, 2006). *Lactobacillus* merupakan bagian dari kelompok bakteri asam laktat (BAL). Bakteri Asam Laktat yang ditemukan dalam makanan tradisional di Asia termasuk *Lactobacillus plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb.brevis*, *Lb.fermentum*, *Lb.casei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *leu.kimchi*, *leu.fallaz*, *weisella confusa* dan *Pediococcus pentosaceous*, yang sebagian besar merupakan probiotik yang potensial. Bakteri Asam Laktat dalam suatu makanan tidak hanya berperan dalam fermentasi tetapi juga memberikan dampak kesehatan yang positif. Dampak positif BAL ini dikemukakan oleh Metchnikoff (1908) yang menyatakan bahwa mikroorganisme penghasil asam pada produk makanan dapat memperpanjang usia bagi yang mengkonsumsinya (Nuraida, 2015). Meskipun dalam sejarahnya makanan fermentasi dengan BAL adalah berbahan dasar susu, banyak penelitian mengarah ke eksplorasi BAL dari makanan tradisional sebagai probiotik yang potensial. Dalam penelitian ini, peneliti mengisolasi BAL dari makanan tradisional naniura dan menguji aktivitas antimikroba yang memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan manusia.

METODE PENELITIAN

Isolasi BAL dari naniura

Bakteri Asam Laktat dari naniura diisolasi dengan menggunakan media

pertumbuhan spesifik yaitu *Man Rogosa Sharpe* (MRS) broth dan MRS agar. Sebanyak 1g daging ikan naniura dilarutkan ke dalam media pertumbuhan spesifik MRS broth, divortex hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob sehingga larutan menjadi keruh yang menandakan BAL telah tumbuh. Proses ini dinamakan proses *enrichment*. Setelah inkubasi, dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat. Sebanyak 0,1 mL kultur BAL dicampurkan dengan 0,9 mL MRS broth steril di dalam *microtube* 1,5 mL dan dihomogenkan dengan cara dibolak balik. Ini merupakan pengenceran 10⁻¹. Pengenceran dilanjutkan hingga 10⁻⁷. Pada pengenceran terakhir ini, sebanyak 0,1 mL kultur BAL disebar ke permukaan MRS agar dengan menggunakan spreader dan dilanjutkan dengan inkubasi hingga 48 jam suhu 37°C. Total koloni BAL (*Colony Forming Unit*) dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Colony Forming Unit (CFU/mL)} = \text{total koloni BAL} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{volume sampel}}$$

Karakteristik Biokimia

Sebanyak 6 koloni BAL dipilih secara acak lalu dikultur pada 6 media MRS agar dengan cara di-streak dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Isolat diberi nama BN1, BN2, BN3, BN4, BN5 dan BN6. Karakteristik biokimia yang

ditentukan meliputi uji katalase, Gram staining dan tipe fermentasi.

Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen

Aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebanyak 1 ose yang terdiri dari 3-5 koloni BAL masing-masing isolat dikultur ke 10 mL media MRS broth steril dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Sebanyak 3-5 koloni bakteri patogen yang meliputi *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhi* dikultur ke dalam 10 mL media nutrient broth steril di dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada kondisi aerob. Setelah inkubasi, bakteri patogen disebar ke permukaan nutrient agar menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram (diameter 5 mm) dicelupkan ke dalam masing-masing isolat BAL menggunakan pinset, dan diletakkan ke permukaan nutrient agar dan diinkubasi selama 48 jam suhu 37°C. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi BAL dari Naniura

Naniura diperkirakan mengandung BAL yang berpotensi sebagai probiotik. Gambar naniura dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Naniura, yang merupakan salah satu makanan khas Batak

Setelah dilakukan enrichment dan pengenceran bertingkat, sebanyak 0,1 mL setiap isolat disebar ke permukaan MRS agar dan diinkubasi. Dari hasil isolasi ini diperoleh kultur BAL sebanyak $2,4 \times 10^7$ CFU/mL. Gambar koloni BAL yang diisolasi dari naniura dapat dilihat pada gambar 2. Dalam penelitian lain dilaporkan bahwa jumlah total koloni BAL yang diisolasi dari nira sawit adalah sebanyak $1,4 \times 10^7$ CFU/mL (Fachrial et al, 2018). Suganya et al (2013) melaporkan bahwa total koloni BAL yang diisolasi dari dadih di India adalah sebanyak $1,5 \times 10^7$ CFU/mL. Desniar

(2013) dalam penelitiannya mengenai karakterisasi BAL dari Bekasam, suatu ikan fermentasi, melaporkan bahwa total koloni BAL dari bekasam adalah berkisar antara $1,4 \times 10^8$ hingga $9,0 \times 10^8$ CFU/mL. Tayo dan Akpeji (2016) menyatakan bahwa suatu makanan probiotik standar harus memiliki minimal 106 CFU/g organisme yang aktif dan hidup pada saat dikonsumsi.

Gambar 2. Koloni BAL dari naniura yang tumbuh di media MRS agar setelah inkubasi 48 jam pada suhu 37 °C

Karakteristik Biokimia BAL

Karakteristik biokimia yang ditentukan meliputi pewarnaan Gram, uji katalase dan jenis fermentasi. Hasil analisa karakteristik biokimia ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Biokimia BAL yang diisolasi dari naniura

Isolat BAL	Karakteristik Biokimia		
	Pewarnaan Gram	Jenis fermentasi	Uji katalase
BN1	Positif	Heterofermentatif	Negatif
BN2	Positif	Heterofermentatif	Negatif
BN3	Positif	Heterofermentatif	Negatif
BN4	Positif	Heterofermentatif	Negatif
BN5	Positif	Heterofermentatif	Negatif
BN6	positif	Heterofermentatif	negatif

Tabel 1 menunjukkan bahwa semua isolat BAL adalah Gram positif, jenis fermentasi heterofermentatif dan katalase negatif. Syukur *et al* (2014) dalam penelitiannya mengenai aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari dadih asal Solok, Sumatera Barat, melaporkan bahwa BAL yang diisolasi dari dadih memiliki karakter Gram positif, katalase negatif, jenis fermentasi homofermentatif. Dalam penelitian lain yang dipublikasikan oleh Syah *et al* (2017) mengenai isolasi dan identifikasi BAL yang diisolasi dari Dangke, keju tradisional asal Enrekang, Sulawesi Selatan, melaporkan bahwa BAL yang diisolasi dari dangke memiliki karakteristik Gram positif, katalase negatif dan tipe fermentasi heterofermentatif. Perbedaan antara BAL homofermentatif dan heterofermentatif dapat dilihat terhadap produk fermentasi yang dihasilkan dan ada atau tidaknya enzim aldolase yang merupakan enzim utama dalam glikolisis. Bakteri heterofermentatif tidak memiliki enzim aldolase sehingga tidak bisa memecah fruktosa bifosfat

menjadi bifosfat triosa. Bakteri heterofermentatif mengoksidasi 6-fosfat glukosa menjadi fosfat pentose dan mereduksinya menjadi fosfat triosa yang dibantu oleh enzim fosfoketolase (Astuti, 2016). BAL menghasilkan ATP melalui fermentasi karbohidrat. Dua jalur utama *pathway* metabolisme heksosa adalah *pathway* glikolitik (Embden-Meyerhof *pathway*) dengan asam laktat sebagai produk akhir utama (metabolisme homofermentatif) dan jalur fosfoketolase dengan produk akhir utama meliputi asam asetat, asam propionat, CO₂, etanol dan asam laktat (Papagianni, 2012).

Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba BAL dilakukan dengan metode difusi cakram. Diameter cakram yang digunakan adalah 5 mm. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan sebanyak dua kali. Rata-rata diameter zona hambat BAL terhadap bakteri patogen ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona hambat antimikroba BAL

Isolat	Zona hambat (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
BN1	8,2	8,22	7,14
BN2	9,12	7,8	7,7
BN3	6,9	6,5	6,7
BN4	8,8	8,22	0
BN5	7,8	9,8	0
BN6	7,6	15,1	0

Dari Tabel 2 di atas terlihat bahwa dapat menghambat pertumbuhan *S. typhi*. dari semua isolat BAL dapat menghambat Gambar aktivitas antimikroba dapat pertumbuhan ketiga bakteri indikator, dilihat pada Gambar 3. kecuali BN4, BN5 dan BN6 yang tidak

Gambar 3. (a) daya hambat BAL terhadap *S. aureus*, (b) daya hambat BAL terhadap *E. coli*, (c) daya hambat BAL terhadap *S. typhi* menggunakan Media Mueller Hinton Agar setelah inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C

Mezaini *et al* (2010) melaporkan *plantarum* dan *Lactococcus lactis*) bahwa BAL yang diisolasi dari minuman susu fermentasi tradisional asal Afrika, "raib" memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai macam bakteri patogen meliputi *Listeria* sp, *Bacillus* sp dan *Enterococcus* sp. Suatu isolat BAL dikatakan memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen jika daya diameter daya hambat minimal 2mm. Dalam penelitian yang lain, Yusra *et al* (2013) mengisolasi 8 isolat BAL dari "Budú", suatu makanan tradisional Sumatera Barat berupa ikan fermentasi. Isolate tersebut mampu menghambat bakteri patogen meliputi *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *B. subtilis*, dan *L. monocytogenes* dengan daya hambat tertinggi berturut-turut adalah 20, 24, 15, 35, dan 20 mm. Chakoosari *et al* (2015) mengevaluasi kemampuan antimikroba 4 spesies bakteri asam laktat (*Lactobacillus saki*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus* terhadap bakteri patogen umum meliputi *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritica* dan *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ke-4 spesies BAL tersebut mampu menghambat semua bakteri patogen dengan daya hambat berkisar 7,66 mm sampai 14 mm. Daya hambat tertinggi ditunjukkan oleh *Lactococcus lactis* terhadap *E. coli* dengan daya hambat mencapai 14mm. Salah satu persyaratan penting bagi BAL dengan aktivitas probiotik adalah kemampuan menghasilkan senyawa penghambat bakteri patogen. Aktivitas antimikroba ini disebabkan oleh produksi asam laktat dan reduksi pH, asam asetat, diasetil, hydrogen peroksida, asam lemak, aldehida, bakteriosin dan senyawa yang lain (Ravindran *et al*, 2016). Aktivitas antimikroba yang utama dari BAL disebabkan oleh produksi asam laktat.

Asam laktat adalah asam organik utama fermentasi BAL terjadi kesetimbangan antara bentuk terdisosiasi dengan tidak terdisosiasi. Asam laktat mengganggu potensial membran sel, menghambat transport aktif dan menurunkan pH intrasel serta menghambat beberapa fungsi metabolik. Asam laktat memiliki spektrum hambat yang luas, yang mampu menghambat bakteri Gram positif maupun negatif (Sanlibaba and Gucer, 2015). Bakteriosin merupakan salah satu faktor antimikroba yang paling penting dari BAL. Bakteriosin adalah protein berukuran kecil dengan aktivitas bakterisida atau bakteriostatik. Jandaik *et al* (2013) melaporkan *Lactococcus* spp. menghasilkan bakteriosin aktivitas antimikroba bakteriosin tersebut efektif menghambat pertumbuhan *S. aureus*, dan tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Bakteriosin memiliki karakteristik berupa 1) inaktif oleh enzim proteolitik pada saluran pencernaan, 2) non-toksik terhadap hewan uji, 3) pada umumnya termotabil, 4) mempunyai aktivitas spectrum luas terutama terhadap bakteri Gram positif (Sanliubaba and Gucer, 2015).

SIMPULAN

Dari penetian ini dapat disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari makanan tradisional khas Batak, “naniura” berpotensi sebagai probiotik, dikarenakan

memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas. BAL dari naniura ini efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, tetapi tidak efektif terhadap *S. typhi*. Untuk penelitian lanjutan perlu dipelajari mengenai berat molekul dan klasifikasi bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL dari naniura.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Rektor Universitas Prima Indonesia, Dr.Chrisemis Novalinda Ginting, M.Kes dan Dekan Fakultas Kedokteran dr. Linda Chiuman, MKM yang telah memfasilitasi berupa sarana dan prasarana sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis juga mengucapkan terimakasih atas kerja keras tim analis lab Biologi Molekuler, Michael Alfian Grey and Ditha Paramitha yang membantu dalam pelaksanaan penelitian ini di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti. (2016). Isolation, Characterization, and Identification Lactic Acid Bacteria from Chicken Waste Faeces that Potential as Probiotics. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 6(5) : 180-191
- Chakoosari, M.M. Ghasemi, M.F. Masiha, A. Darsanaki, R.K. Amini, A. (2015). Antimicrobial Effect of Lactic Acid Bacteria against Common Pathogenic Bacteria. *mljgoums*. 9(5) : 1-4
- Desniar, Rusmana, I. Suwanto, A. Mubarik, N.R. (2013). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from an Indonesian Fermented Fish (Bekasam) and Their Antimicrobial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Emir. J. Food Agric*. 25 (6) : 489-494

- Fachrial, E., Adrian, Harmileni. 2018. Isolasi, Aktivitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit, *Biolink*, Vol.5 (1) : Hal. 51-58
- Febrian, G.M. Julianti, E. Rusmarilin, H. (2016). Pengaruh Berbagai Jenis Asam Jeruk dan lama Perendaman Terhadap Mutu Ikan Mas Naniura. *J.Rekayasa pangan dan Pert.* 4(4) : 471-482
- Jandaik, S. Sharma, M, Kumar, J. Singh, R. (2013). Antimicrobial Activity of Bacteriocin Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Milk Poducts. *Journal of Pure and Applied Microbiology.* 7(1) : 603-608
- Manalu, M.B.F. (2009). Memperkenalkan Naniura Makanan Khas Batak Sebagai Hidangan Appetizer. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara.* 8 : 52-61
- Maragkoudakis, P.A. Zoumpopoulou, G. Miaris, C. Kalantzopoulos, G. Pot, B. Tsakalidou, E. (2006). Probiotic Potential of Lactobacillus strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal.* 16: 189-199
- Mezaini, A. and Bouras, A.D. (2010). Antibacterial activity and probiotic properties of some lactic acid bacteria isolated from dairy products. *African Journal of Biotechnology.* 9(26) : 1-8
- Nuraida, L. (2015). A review : Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Science and Human Wellness.* 4 : 47-55
- Papagianni, M. (2012). Metabolic Engineering of Lactic Acid Bacteria for the Production of Industrially Important Compounds. *Computational and Structural Biotechnology Journal.* 3(4) : 1-8
- Ravindran, L. Manjunath, N. (2016). In Vitro Study Analysis of Antimicrobial Properties of Lactic Acid Bacteria Against Pathogens. *J. Bio. Innov.* 5(2) : 262-269
- Sanlibaba, P and Gucer, Y. (2015). Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria. *Journal of International Scientific Publications.* 3 : 451-457
- Suganya, K. Murugan, T. Murugan, M. (2013). Isolation and Characterization of Probiotic Lactic Acid Bacteria from Milk and Curd Samples. *Int J Pharm Bio Sci.* 4 (1) : 317-324
- Syah, S.P. Sumantri, C. Arief, I.I. Taufik, E. (2017). Isolation and Identification of Indigenous Lactic Acid Bacteria by Sequencing the 16S rRNA from Dangke, A Traditional Cheese from Enrekang, South Sulawesi. *Pak J. Nutr.,* 16 (5) : 384-392
- Syukur, S. Fachrial, E. Jamsari. (2014). Isolation, antimicrobial activity and protein bacteriocin characterization of lactic acid bacteria isolated from dadih in Solok, West Sumatera, Indonesia. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 5(6) : 1096-1104
- Tayo, A. and Akpeji, S. (2016). Probiotic Viability, Physicochemical and Sensory Propertis of Probiotic Pineapple Juice. *Fermentation.* 2 (20) : 1-11
- Yusra, Azima, F. Periadnadi. (2013). Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Budu of West Sumatera to Food Preservatives. *Pak. J. Nutr.,* 12 (7) : 628-635.