

Pengaruh pH terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik

Effect of pH on Production Antibacterial by Lactic Acid Bacteria From Gut Duck

Rudy Sutrisna¹, Christina Nugroho Ekowati², Edelina Sinaga³

¹ Dosen Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

² Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

³ Mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia
Jln. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia, 35145
korespondensi : adelialina@gmail.com

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of pH on the production of antibacterial by lactic acid bacteria. This study uses a completely randomized design factorial 3X 5 (3 X 5 treatment of bacterial isolates pH) with three replications. The first factor consisted of pH 4, pH 5, pH 6, pH 7, pH 8, and the second factor that isolates B2, B7, B8, whereas the parameters consists of a clear zone. The amount of production is determined by the size of the diameter of antibacterial inhibition zone against *Salmonella* sp. Differences in the production of antibacterial determined based on the results of analysis of variance. The treatment significantly further test BNT at 5% level. The results showed that the effect of media pH test based on the potential for the production of antibacterial effect. The diameter of the largest clear zone produced by B7 isolates at pH 6 was 17.2 mm, 17.1 mm B8 and B2 at pH 7 at 16.7 mm. The smallest diameter of the clear zone produced by B8 at pH 4 was 15.1 mm, B2 at pH 6 there is a clear zone of 12.7 mm and isolate B7 at pH 5 of 11.5 mm*

Keywords: Antibacterial, Lactic Acid Bacteria, pH, Salmonella sp, Clear zone

Diterima: 11-08-2015: disetujui 23-10-2015

PENDAHULUAN

Salah satu sumber bakteri asam laktat (BAL) diperoleh dari usus itik. Pada umumnya, BAL digunakan sebagai probiotik, khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan (Sujaya *et al.*, 2008). Keberadaan BAL mampu bertahan di dalam variasi pH pada saluran pencernaan itik (Tillman *et al.*, 1989). Pada tembolok itik memiliki pH sekitar pH 6,3, pH di lambung antara 1 – 2, pH di ileum antara 7 dan 8, pH di proventrikulus 2 – 4, dan pH di ventrikulus 2,6 (Anggorodi, 1984). Bakteri asam laktat mampu memproduksi bakteriosin untuk menghambat atau membunuh bakteri yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Salah satu produksi antibakteri dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu pH, umur bakteri, waktu inkubasi, suhu dan lain – lain. PH optimum diperlukan untuk produksi antibakteri karena pH sangat berpengaruh dalam pembentukan bakteriosin optimum pada pH 5 dan 6

pada media MRS (Mogjani dan Amirnia, 2007). Peningkatan pH sampai pH optimum menghasilkan produksi bakteriosin yang maksimal, sementara itu faktor suhu memiliki dua pengaruh yang bertentangan yaitu meningkatkan produksi bakteriosin tetapi juga bisa membunuh BAL penghasil bakteriosin (Januarsyah, 2007). Produksi antibakteri semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* apabila semakin luas/lebar zona hambat yang terbentuk disekitar sumur (Jawet,1996).

Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi pH terhadap produksi antibakteri oleh Bakteri asam laktat. Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pH optimal terhadap produksi antibakteri oleh bakteri asam laktat.

METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung reaksi, tabung *anaerobic jar*, cawan petri, erlenmeyer, vortex mixer, inkubator dengan suhu 37°C , pH meter. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Nutrient Agar, (NA), MRS Broth, Bacterial Agar, 3 isolat bakteri dari usus itik yaitu B2, B7, dan B8 (koleksi Sutrisna, 2010) yang diremajakan , isolat bakteri uji *Salmonella sp.* umur 24 jam, larutan buffer fosfat dan sitrat

Pembuatan starter

Bakteri yang berumur 48 jam diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml MRS Broth steril, lalu diinkubasi selama 48 jam dalam anaerobic jar

Produksi antibakteri

Sebanyak 20 ml MRS Broth Steril dengan larutan buffer sitrat untuk membuat pH 4, 5, dan pH 6, kemudian dimasukkan 4 ml starter. 20 ml MRS Broth Steril dengan ditambahkan larutan buffer fosfat untuk dibuat pH 7, dan pH 8 lalu diukur dengan pH meter ,kemudian dimasukkan 4 ml starter dan diinkubasi selama 48 jam.

Preparasi antibakteri

Sebanyak 5 ml kultur diambil untuk diukur pH sesudah inkubasi 48 jam. Lalu 5 ml kultur diambil dan ditambahkan NaOH 1M dengan menggunakan pipet tetes hingga pH menjadi pH 7. Kemudian diambil 0,1 ml untuk dimasukkan ke dalam *microtube* dan di *sentrifuge* dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh adalah ekstrak antibakteri yang diuji dengan isolat bakteri uji *Salmonella sp.*

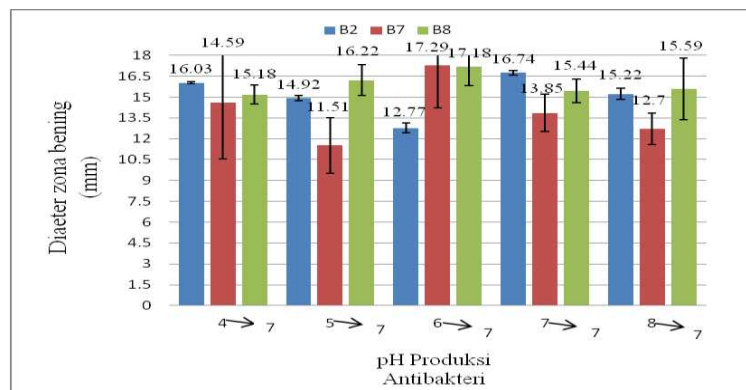
Uji antibakteri dengan Salmonella sp.

Sebanyak 0,1 ml suspensi *Salmonella sp.* diinokulasi secara pour plate ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan 20 ml media NA. Setelah media padat dibuat sumuran dengan diameter lubang 0,7 cm. Setiap cawan petri berisi tiga sumuran. Pada masing-masing sumuran, dimasukkan zat antibakteri sebanyak 0,1 ml, kemudian diinkubasi dalam inkubator suhu 40°C selama 24 jam. Pengaruh pH terhadap antibakteri dengan *Salmonella sp.* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumur. Semakin besar diameter zona Penentuan diameter zona hambat antibakteri yang terbentuk pada setiap sumuran diukur dari tiga sisi yang berbeda, kemudian di rata-rata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

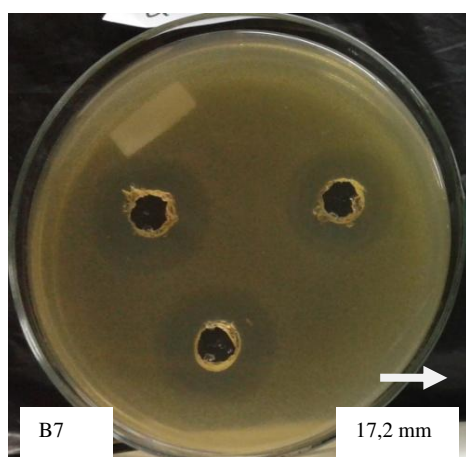
Potensi antibakteri non asam oleh BAL pada media dengan variasi pH

Kemampuan isolat B2, B7, dan B8 dari usus itik dalam memproduksi antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar sumur. Zona bening yang terbentuk menunjukkan zona hambat ekstrak antibakteri BAL terhadap *Salmonella* sp. Potensi antibakteri non asam oleh dengan variasi media pH 4 – 8 mampu memproduksi antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri *Samonella* sp. Setiap isolat B2, B7, dan B8 memiliki kemampuan berbeda – beda dalam menghasilkan daya hambat terhadap *Salmonella* sp. Diameter zona bening terbesar dihasilkan oleh isolat B7 pada pH 6 sebesar 17,2 mm dan B8 sebesar 17,1 mm, kemudian isolat B2 pada pH 7 memiliki diameter zona bening sebesar 16,7 mm, sedangkan diameter zona bening dihasilkan oleh B8 pada pH 4 sebesar 15,1 mm, kemudian isolat B2 pada pH 6 sebesar 12,7 mm dan isolat B7 pada pH 5 sebesar 11,5 mm. Perbedaan diameter zona bening isolat B2, B7 dan B8 dengan variasi pH media dapat dilihat pada Gambar 1.

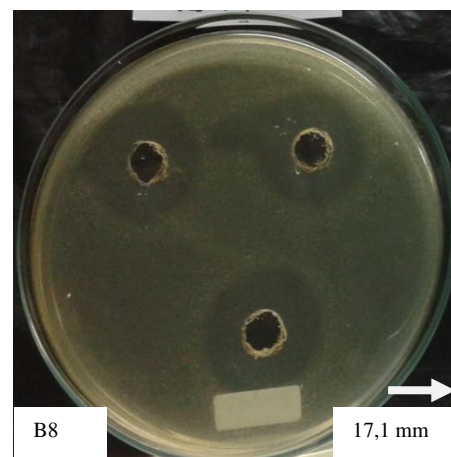


Gambar 1. Perbedaan diameter zona bening isolat B2, B7 dan B8 dengan variasi pH media

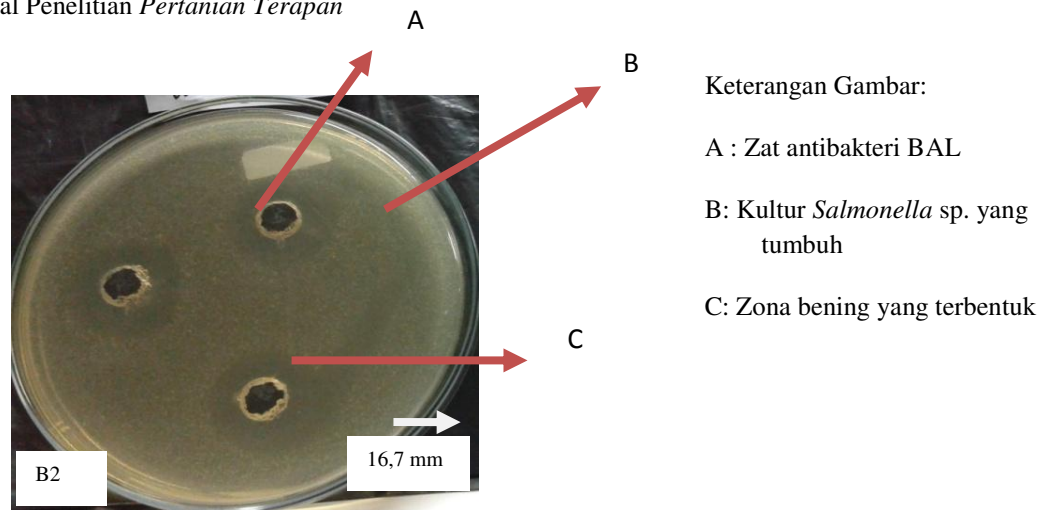
Pada media pH 6 dan pH 7 ditunjukkan besarnya daya hambat B2, B7 dan B8 terhadap *Salmonella* sp. yang dapat dilihat pada (gambar 2), (gambar 3) dan (gambar 4) di bawah ini:



Gambar 2. Diameter zona bening pH 6



Gambar 3. Diameter zona bening pH 6



Keterangan Gambar:

A : Zat antibakteri BAL

B: Kultur *Salmonella* sp. yang tumbuh

C: Zona bening yang terbentuk

Gambar 4. Diameter zona bening pH 7

Potensi antibakteri non asam oleh 3 isolat (B2, B7, dan B8) dengan variasi pH media untuk produksi antibakteri mampu menghambat *Salmonella* sp. Kemampuan setiap isolat berbeda-beda (berbeda nyata) dalam menghasilkan diameter hambat zona. Bakteriosin bekerja menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. tanpa pengaruh asam dari perlakuan pH media. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pH 6-7 isolat B2, B7, dan B8 menghasilkan zona hambat terbesar sedangkan pada pH 4 isolat B2, B7, B8 menghasilkan zona hambat terkecil untuk produksi antibakteri.

Menurut Andriani dan Kurniawati (2007), besarnya nilai pKa, yaitu besarnya molekul yang tidak dapat terdisosiasi dipengaruhi oleh kemampuan antibakteri dari asam organik (asam laktat dan asam asetat). Asam asetat memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan asam laktat karena nilai pKa asam asetat lebih besar daripada asam laktat. Andriani dan Kurniawati (2007) bahwa asam laktat dan asam asetat dihasilkan dari metabolit primer memiliki kemampuan sebagai antibakteri dalam menghambat *Salmonella* sp. Asam organik dari BAL sebagai antibakteri memiliki kemampuan dalam menurunkan pH menjadi 3 – 4,5. Hendriani (2009) menyebutkan bahwa hasil metabolit primer dari BAL berfungsi sebagai antibakteri, antara lain senyawa peptida antimikroba yang disebut bakteriosin, asam organik (asam laktat dan asam asetat), dan karbon dioksida (CO₂). Menurut Mojgani dan Amirnia (2007), pengaruh pH merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan dan pembentukan bakteriosin pada bakteri asam laktat. *L. casei* RN 78 tumbuh baik dan memproduksi bakteriosin secara maksimal pada pH 5 dan 6 dalam media MRS

Bakteri yang hidup pada pH > 4,5 akan mati, termasuk bakteri patogen yaitu *Salmonella* sp. *Salmonella* sp. membutuhkan pH optimum sebesar 6,5 – 7,5 meskipun memiliki kemampuan hidup pada derajat pH 4-9. BAL mampu menghasilkan asam organik untuk menurunkan pH lingkungan yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. Menurut Cotter (2003), asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen termasuk *Salmonella* sp. yaitu spesies Gram negaif dan berbagai tipe bakteri pembusuk. Menurut Mustakin (1993), asam laktat terbentuk dari bakteri asam laktat yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Fungsi bakteri dari asam laktat ini menurunkan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat (Rostini, 2007). Pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6-8 (Buckle *et al.*, 1987). Dengan terbentuknya zat antibakteri dan asam maka pertumbuhan bakteri patogen akan dihambat (Rostini, 2007). Menurut Syabana (2007) salah satu aspek penting dalam hal aplikasi bakteri asam laktat dalam proses fermentasi adalah kemampuannya untuk memproduksi bakteriosin. Bakteriosin adalah protein yang dihasilkan oleh

bakteri asam laktat yang mampu menghambat pertumbuhan berbagai patogen dan bakteri perusak. Asam laktat dapat terbentuk melalui proses fermentasi yang berlangsung dengan adanya aktivitas bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus*, yang berlangsung secara spontan, dan terjadi secara alamiah dengan memperhatikan kondisi lingkungannya yaitu anaerobik.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH 6-7 bisa digunakan sebagai pH optimum produksi antibakteri oleh isolat B2, B7, B8 dari usus itik. Isolat B7 menghasilkan daya hambat terbesar yaitu sebesar 17,2 mm terhadap *Salmonella* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani., D., W. Kurniawati. 2007. Pengaruh Asam Asetat dan Asam Laktat sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Salmonella* sp. yang Diisolasi dari Karkas Ayam. *J. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007: 930-934.*
- Anggorodi, R., 1984. Ilmu Makanan Ternak Umum. PT. Gramedia, Jakarta.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Cotter, P. D., and C. Hill. 2003. Surviving the Acid Test: Responses of Gram positive Bacteria to Low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67 (3): 429-453.
- Hendriani, R., T .Rostinawati, S.A.F. Kusuma. 2009. Penelusuran Antibakteri Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat dalam Yoghurt Asal Kabupaten Bandung Barat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (LITMUD) UNPAD*. Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Januarsyah, T. 2007. Kajian aktivitas hambat bakteriosin dari bakteri asam galur SCG 1223. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Jawet, Melnik dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta.
- Langhout, P. 2000. New Additives for broiler chicken. Feed Mix. *The International Journal on feed, Nutrition and Technology* 9(6):24 - 27.
- Mojgani, N. and C. Amirnia. 2007. Kinetics of Growth and bacteriocin production in *L. casei* RN 78 isolated from a dairy sample in IR Iran. *International journal of Dairy science* 2(1): 1-12
- Sujaya I. N, Ramona Y, Utami D. N. M, Suariani N. L. P, Widarini N. P, Nocianitri K. A, Nursini N. W. 2008. Isolation and characterization of Lactic acid bacteria from Sumbawa mare milk. *J Vet* 9: 52-59.
- Tillman, A. D., Hari H., Soedomo R., Soeharto P., dan Sukato, L.,1989. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. UGM-Press, Yogyakarta.