

AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI BAKTERI *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 PADA BERBAGAI MEDIA

Kusmiati¹, Amarila Malik²

¹Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, 16911

²Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, 16424

E-mail: amarila@indo.net.id

Abstrak

Bakteriosin merupakan senyawa protein yang memiliki efek bakterisida terhadap mikroorganisme lain. Bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat sangat potensial untuk digunakan sebagai pengawet makanan alami. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh medium pertumbuhan MRS, CMG, LTB dan CM terhadap aktivitas antimikroba *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1. Penentuan zona hambatan pertumbuhan terhadap bakteri indikator *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus pentosus* dan *Lactobacillus acidilactici*, dilakukan melalui uji antagonisme dengan metode difusi sumur agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri indikator yang sensitif yaitu *L. plantarum* dan *L. acidilactici*, sedangkan media terbaik untuk pertumbuhan bakteri indikator sensitif adalah MRS. Diameter zona hambatan terhadap *L. plantarum* adalah 1,28 cm dan terhadap *L. acidilactici* adalah 1,23 cm. Media terbaik untuk memproduksi supernatan *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 dengan aktivitas bakteriosin tertinggi adalah MRS dengan diameter zona hambatan terhadap *L. plantarum* 1,28 cm dan terhadap *L. acidilactici* 1,19 cm. Titer aktivitas bakteriosin adalah 100 AU/ml. Berdasarkan hasil di atas, media MRS digunakan untuk uji aktivitas bakteriosin dari supernatan kultur *L. mesenteroides* Pbac1 dengan sumber karbon berbeda yaitu glukosa, maltosa dan manosa. Hasil menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon terbaik dengan diameter zona hambatan terhadap *L. plantarum* dan *L. acidilactici* adalah 1,23 cm. Titer aktivitas bakteriosin terhadap bakteri indikator pada uji tersebut adalah 100 AU/ml.

Abstract

Bacteriocin activity of *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 bacteria on several media. Bacteriocin is a proteinaceous compound that has bactericidal action against microorganisms. Bacteriocins from lactic acid bacteria are very potential as natural food biopreservatives. The aim of the research was to know the influence of the growth medium; MRS, CMG, LTB and CM on antimicrobial activity of *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1. Growth inhibition zone determination has been carried out by antagonism assay, as well as diffusion method using *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus acidilactici* as indicator strains. The results showed that *L. plantarum* and *L. acidilactici* were the sensitive indicators. The best growth medium for antagonism assay of the two sensitive indicator bacteria was MRS, which showed inhibition zone diameter of 1.28 cm and 1.23 cm, respectively. The most active supernatant was produced by *L. mesenteroides* Pbac1 grown on MRS, which inhibited the growth of *L. plantarum* and *L. acidilactici* with respective zone diameter of 1.28 cm and 1.19 cm. Bacteriocin titre activity against sensitive indicator bacteria was 100 AU/ml. Based on the result, MRS was further utilized to study the effect of the different carbon sources i.e glucose, maltose and mannose on bacteriocin activity of *L. mesenteroides* Pbac1. The results showed that glucose was the best carbon source as indicated by the widest diameter of inhibition zone, i.e 1.23 cm, against both indicator strains. Bacteriocin titre activity of the latter study was 100 AU/ml.

Keywords: Bacteriocin, Leuconostoc mesenteroides, titre activity

Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) secara luas digunakan sebagai starter untuk fermentasi minuman, daging dan sayuran. BAL umum digunakan dalam industri fermentasi saos dilaporkan oleh Stiles dan Hastings¹. Selain itu berperan sebagai bahan flavor dan pengembang warna². Mikroorganisme ini berperan dalam perubahan tekstur, aroma, warna, pencernaan dan kualitas nutrisi produk fermentasi³.

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas *higiene* dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen⁴⁻⁵. BAL dapat berfungsi sebagai pengawet makanan karena mampu memproduksi asam organik, menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer asam amino dan bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama yang memiliki kekerabatan erat secara filogenik⁶⁻⁷. Senyawa ini mudah terdegradasi oleh enzim proteolitik dalam pencernaan manusia dan hewan. Bakteriosin banyak diteliti karena berpotensi sebagai pengawet makanan alami dan dapat diaplikasikan di bidang farmasi⁸. Beberapa jenis bakteriosin mempunyai spektrum yang luas dan mempunyai aktivitas menghambat terhadap pertumbuhan beberapa patogen makanan seperti *Listeria monocytogenes* dan *S. aureus*⁹. Beberapa spesies dari genus *Lactobacillus* dilaporkan menghasilkan bakteriosin seperti lactocin 27 oleh *L. helveticus* LP27¹⁰; lactacin F oleh *L. acidophilus* 88¹¹; plantacin B oleh *L. plantarum* NCDO 1193¹²; sakacin A oleh *L. sake* Lb 706²; brevicin 37 oleh *L. brevis* B37¹³. Dari kelompok lain nisin dihasilkan oleh *Lactococcus lactis*¹⁴; colicins oleh *E. coli*⁷.

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat mudah diterima sebagai bahan tambahan dalam makanan baik oleh ahli kesehatan maupun oleh konsumen karena bakteri ini secara alami berperan dalam proses fermentasi makanan¹⁵⁻¹⁶.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh media pertumbuhan yang berbeda terhadap aktivitas bakteriosin yang dihasilkan *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 dengan menggunakan beberapa bakteri indikator melalui

pembentukan zona jernih hambatan.

Metode Penelitian

Bahan

Mikroorganisme yang diuji berpotensi menghasilkan antimikroba adalah bakteri asam laktat *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 yang berasal dari minuman fermentasi. Bakteri indikator yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba meliputi *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. acidilactici* dan *L. pentosus*.

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat adalah MRS¹⁷ dengan komposisi per liter ; bacto pepton 10 g, ekstrak khamir 5 g, glukosa 20 g, lab lemco powder 10g, Tween 80, K₂HPO₄ 2 g, natrium asetat 5 g, triamonium sitrat 2 g, MgSO₄ 0.05g, agar 12 g pada pH 6.3. Media pengujian aktivitas antimikroba yang digunakan yaitu MRS, CMG, LTB dan CM. Komposisi media per liter CMG (ekstrak khamir 5 g, polipepton 5 g, NaCl 5 g, glukosa 10 g, pH 7.0). LTB (ekstrak daging 10g, glukosa 10 g, ekstrak khamir 10g, tripton 10g, NaCl 5g, Na₂HPO₄ 2g pH 6.4). CM (Sukrosa 10g, pepton 10g, ekstrak khamir 20 g, KH₂PO₄ 10g, NaCl 5 g, MgSO₄ 7 H₂O 0.2g, pH 6.8).

Metode

Uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri indikator sensitif

Bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 ditumbuhkan pada 4,0 ml media cair MRS kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 17-20 jam. Suspensi bakteri kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Filtrat dipisahkan dan pHnya dinetralkan hingga pH 6,8, kemudian ditambahkan enzim katalase. Filtrat disterilkan dengan filter Millipore berdiameter 0.22 µm ke dalam tabung steril. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri indikator dengan menggunakan metode difusi sumur agar. Sebanyak 4,0 ml media MRS, LTB, CM, dan CMG yang mengandung agar 1,2% dituang secara aseptis ke dalam cawan petri dan dibiarkan membeku. Inokulum bakteri indikator masing-masing dimasukkan ke dalam 4 macam medium agar lunak yaitu MRS, LTB, CM, dan CMG yang mengandung 0,7% agar. Kemudian dituang ke cawan petri. Setelah memadat dibuat sumur-sumur. Sebanyak 40 µl supernatan antimikroba dimasukkan kedalam sumur, lalu diinkubasikan pada suhu yang sesuai untuk masing-masing indikator selama 24 jam. Zona hambatan yang terbentuk MRS, LTB, CM, dan CMG. Suspensi bakteri tersebut diinkubasi pada inkubator bergoyang Uji aktivitas antimikroba yang diproduksi dalam berbagai media tumbuh

Sebanyak 1% suspensi bakteri *L. mesenteroides* Pbac1

dengan suhu 37°C selama 17-20 jam. Masing-masing suspensi bakteri dalam Erlenmeyer diamati pertumbuhan sel dan dilakukan pengukuran *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 660 nm, pengukuran pH medium, dan pengujian aktivitas mikroba.

Uji Aktivitas antimikroba pada media MRS dengan sumber karbon berbeda

Sebanyak 1% suspensi bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 diinokulasikan ke dalam media cair MRS dengan memvariasikan sumber karbon yaitu glukosa, maltosa dan manosa. Suspensi bakteri dalam medium cair tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 17-20 jam dengan goyangan 100 rpm. Bakteri yang sudah tumbuh disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan filtratnya. Supernatan disterilkan dengan filter Millipore 0.22 µm. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri indikator dengan menggunakan metode difusi sumur agar. Sebanyak 4,0 ml media MRS mengandung agar 1,2% dituang secara aseptik ke dalam cawan petri dan dibiarkan membeku. Inokulum bakteri indikator dimasukkan ke dalam media lunak MRS yang mengandung agar 0,7% kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah media uji memadat dibuat sumur-sumur dan diisi 40 µl supernatan yang akan diuji. Cawan petri berisi supernatan diinkubasi selama 24 jam. Zona hambatan yang terbentuk diukur.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 sebagai penghasil bakteriosin. Bakteri tersebut tergolong bakteri asam laktat heterofermentatif, Gram positif. Karakteristik bentuk sel bulat, bersifat anaerob fakultatif, sel tidak motil. Bakteri ini dikelompokkan katalase negatif, tidak membentuk spora, kemoorganotrof dan suhu optimum untuk pertumbuhannya berkisar 20°C hingga 30°C.

Penelitian diawali dengan uji pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi optimum bakteri indikator sehingga mendapatkan zona hambatan tertinggi. Seleksi awal dilakukan dengan metode tusuk terhadap 12 spesies bakteri yang digunakan sebagai indikator. Volume bakteri indikator yang ditambahkan bervariasi yaitu sebanyak 50 µl, 100 µl dan 150 µl. Kerapatan bakteri indikator merupakan salah satu faktor terpenting yang mempengaruhi ukuran zona hambatan yang terbentuk. Jika jumlah inokulum bakteri indikator sedikit, maka waktu yang diperlukan untuk mencapai akumulasi biomasa sel bakteri menjadi lama sehingga zona hambatan yang terbentuk menjadi lebih besar. Semakin besar volume bakteri indikator yang ditambahkan maka akan menghasilkan zona hambatan yang

lebih kecil. Volume inokulum bakteri indikator sebanyak 50 µl menunjukkan Pertumbuhan bakteri tersebar merata di atas permukaan media uji dan memberikan diameter zona hambatan yang lebih besar terhadap antimikroba yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1.

Hasil uji dengan metode tusuk terhadap 12 spesies bakteri indikator diperoleh 5 spesies bakteri yang sensitif terhadap antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri *L. mesenteroides* Pbac1. Kelima bakteri indikator tersebut yaitu *Staphylococcus aureus*, *Leuconosnoc mesenteroides*, *L. plantarum*, *L acidilactici*, dan *L. pentosus* Hasil pengukuran diameter zona hambatan tercantum pada

Tabel 1. diameter zona, hambatan juga semakin meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi. Diameter zona tertinggi dicapai pada inkubasi 24 jam dan setelah masa inkubasi 35 jam diameter zona hambatan menurun.

Uji Aktivitas supernatan bakteriosin terhadap bakteri indikator pada media berbeda

Kelima spesies bakteri indikator yang memberikan respon sensitif terhadap bakteriosin kemudian digunakan untuk menguji aktivitas bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1 pada berbagai medium berbeda. Tahap ini bertujuan untuk mencari media terbaik untuk pertumbuhan bakteri indikator. Ada empat macam media yang digunakan yaitu media MRS, CMG, LTb, dan CM. Pengkulturan bakteri penghasil antimikroba dilakukan pada medium MRS yang merupakan medium spesifik untuk bakteri asam laktat. Selama proses pertumbuhan, bakteri

Tabel 1. Diameter zona hambatan dari *L. mesenteroides* Pbac1 pada media MRS dengan variasi volume suspensi bakteri indikator menggunakan metode tusuk

Bakteri Indikator	Volume (µl)	Diameter (cm)			
		17 jam	21 jam	24 jam	35 jam
<i>L. plantarum</i>	50	1,00	1,02	1,13	1,08
	100	0,74	0,85	0,90	0,84
	150	0,43	0,49	0,72	0,71
<i>L. mesenteroides</i>	50	0,42	0,47	0,49	0,43
	100	0,40	0,44	0,44	0,42
	150	0,49	0,37	0,43	0,39
<i>S. aureus</i>	50	1,22	1,34	1,44	1,40
	100	0,95	1,01	1,03	0,98
	150	0,85	0,94	0,97	0,97
<i>L. pentosus</i>	50	0,48	0,49	0,72	0,49
	100	0,44	0,47	0,49	0,44
	150	0,42	0,42	0,43	0,42
<i>L. acidilactici</i>	50	1,25	1,24	1,24	1,25
	100	1,22	1,23	1,23	1,23
	150	1,20	1,21	1,22	1,21

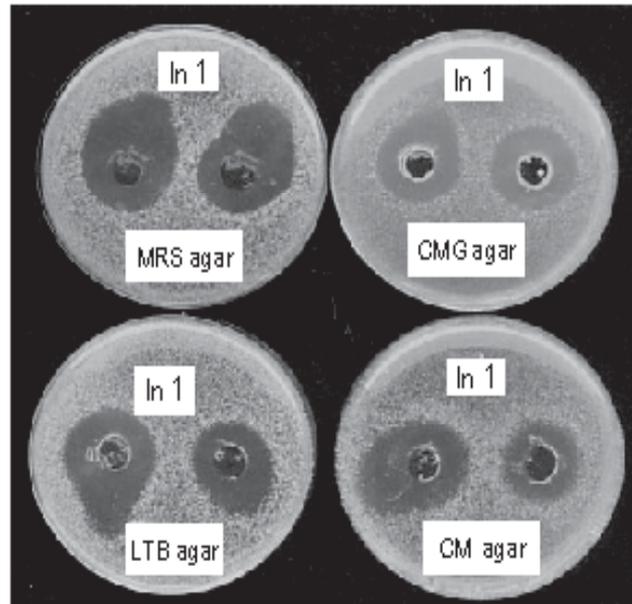
akan menghasilkan asam laktat dan senyawa-senyawa yang merupakan antimikroba lain. Untuk menghindari adanya hambatan pertumbuhan terhadap bakteri indikator oleh asam organik yang dihasilkan selama inkubasi maka supernatan antimikroba terlebih dahulu dinetralisasi dengan menambahkan NaOH sampai pH supernatan menjadi 6,8. Sedangkan untuk mengantisipasi adanya pengaruh aktivitas hambatan yang disebabkan oleh hidrogen peroksida dan diasetil yang diproduksi oleh bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 dihilangkan dengan menambahkan enzim katalase yang akan memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Selain itu kultivasi isolat *L. mesenteroides* Pbac1 dilakukan pada kondisi oksigen terbatas sehingga kedua metabolit tersebut bila diproduksi hanya dalam konsentrasi kecil dalam media cair [18]. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari kelima spesies yang diuji dengan metode sumur agar hanya ada dua spesies yang sangat sensitif terhadap supernatan bakteriosin yaitu *Lactobacillus plantarum* dengan diameter zona hambatan rata-rata tertinggi 1,28 cm dan *Lactobacillus acidilactici* dengan diameter zona hambatan rata-rata tertinggi 1,23 cm (Tabel 2).

Pada uji sebelumnya menggunakan metode tusuk, tiga bakteri indikator lain yaitu *S. aureus*, *L. mesenteroides*, dan *L. pentosus* memberikan respon sensitif terhadap isolat *L. mesenteroides* Pbac1 dengan terbentuknya zona hambatan pertumbuhan. Namun tidak menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan pada uji dengan supernatan *L. mesenteroides* Pbac1. Hal ini dapat disimpulkan bahwa terjadinya penghambatan pertumbuhan pada uji sebelumnya dengan metode tusuk lebih disebabkan oleh senyawa-senyawa lain yang mempunyai aktivitas antibakteri seperti asam-asam organik atau hidrogen peroksida dan bukan oleh bakteriosin. Menurut Daeschel⁴ bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-senyawa tertentu selain asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya H₂O₂, diasetil dan bakteriosin dalam jumlah yang relatif sedikit dibandingkan dengan produksi asam organik⁴.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa media MRS paling baik untuk pertumbuhan bakteri indikator. Hal ini ditunjukkan oleh adanya zona hambatan terbesar dibandingkan dengan menggunakan media CMG, LTB dan CM (Gambar 1). Pada bakteri indikator *L. plantarum* diameter zona hambatan rata-rata adalah 1,28 cm, sedangkan pada bakteri indikator *L. acidilactici* diperoleh diameter zona hambatan rata-rata 1,23 cm. Titer aktivitas bakteriosin pada media fermentasi MRS terhadap bakteri indikator *L. plantarum* dan *L. acidilactici* adalah 100 AU/ml sedangkan diameter zona hambatan rata-rata tertinggi adalah 1,28 cm terhadap *L. plantarum* dan 1,19 cm terhadap *L. acidilactici* (Tabel

Tabel 2. Diameter zona hambatan bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1 terhadap bakteri indikator pada berbagai media

Bakteri Indikator	Diameter Zona Hambatan (cm)			
	MRS	CMG	LTB	CM
<i>L. plantarum</i>	1,28	1,20	1,16	1,13
<i>L. acidilactici</i>	1,23	1,18	1,14	1,12



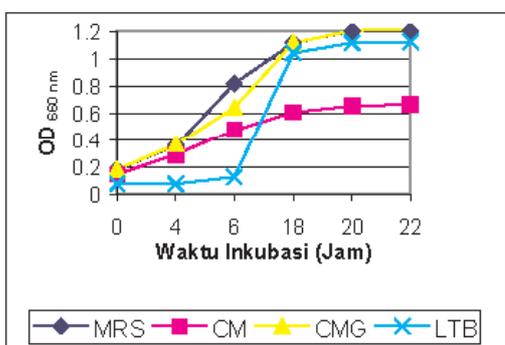
3).

Jumlah sel bakteri. Pengamatan terhadap pertumbuhan sel bakteri dilakukan dengan penentuan jumlah sel menggunakan metode seri pengenceran. Secara umum jumlah sel tertinggi pada keempat media dicapai pada 18 jam setelah inkubasi (Gambar 2).

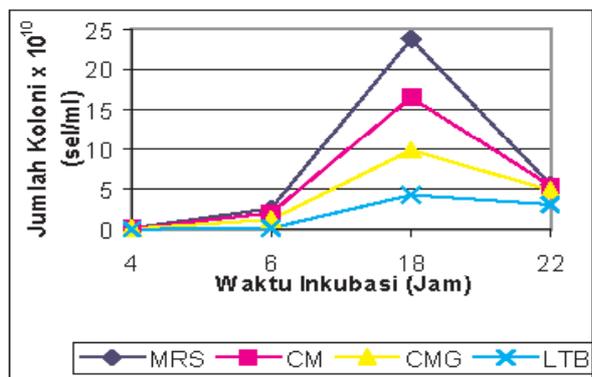
Hasil pengamatan terhadap *optical density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm dan jumlah koloni dari suspensi bakteri menunjukkan adanya perbedaan pada keempat media. Pada media MRS pertumbuhan sel jauh lebih pesat, berikutnya berturut-turut pada media CMG, LTB dan CM. Fase lag bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 pada keempat media dicapai pada empat jam masa inkubasi. Fase pertumbuhan eksponensial dimulai setelah 4 jam inkubasi dan mencapai maksimum pada 18 jam inkubasi.

Tabel 3. Diameter zona hambatan dari bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1 pada 4 media fermentasi yang berbeda

Bakteri Inhibitor	Media	Konsentrasi		
		1	½	¼
<i>L. plantarum</i>	MRS	1,28	1,00	0,92
	CMG	1,23	0,98	0,81
	LTB	0,82	0,73	0,59
	CM	0,48	0,29	-
<i>L. mesenteroides</i>	MRS	1,19	0,94	0,82
	CMG	0,84	0,72	0,44
	LTB	0,81	0,72	0,48
	CM	0,38	0,24	-



Gambar 2. Konsentrasi bakteri *L. mesenteroides* Pbac1



Gambar 3. Jumlah sel bakteri *L. mesenteroides* Pbac1 pada berbagai jenis media dengan metode seri pengenceran

Fase stasioner berlangsung sampai 22 jam inkubasi kemudian mengalami fase kematian (Gambar 3). Bakteriosin disintesa selama fase pertumbuhan eksponensial. Perpanjangan waktu inkubasi setelah fase stasioner menyebabkan aktivitas bakteriosin menurun karena terbebasnya protease dari sel pada saat sel memasuki fase kematian¹⁸. Hasil penghitungan koloni dengan metode pengenceran menunjukkan bahwa peningkatan populasi bakteri juga lebih banyak dalam media MRS dibandingkan media yang lain.

pH. Pengamatan terhadap perubahan pH secara umum menunjukkan hasil pH yang seragam (Gambar 4). Penam-

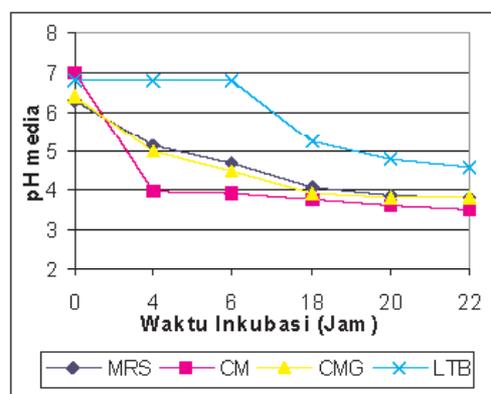
bahan waktu inkubasi menunjukkan kecenderungan pH menurun karena diproduksi asam organik terutama asam laktat. pH awal media MRS cair yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6,8.

Hasil pengukuran pH selama pertumbuhan *L. mesenteroides* Pbac1 menunjukkan bahwa setelah 4 jam inkubasi menurun hingga 5,13, kemudian setelah 6 jam inkubasi pH menurun drastis hingga 4,69. Selanjutnya pH terus menurun hingga 3,84 selama fase pertumbuhan eksponensial sampai fase kematian sel. Pada media CMG, LTB dan CM juga menunjukkan penurunan pH selama pertumbuhan *L. mesenteroides* Pbac1.

Uji aktivitas supernatan bakteriosin pada media MRS dengan variasi sumber C.

Mikroba dalam kehidupannya membutuhkan makronutrien dan mikronutrien. Salah satu makronutrien yang dibutuhkan adalah sumber karbon yang berguna untuk tumbuh, berkembang biak, sumber energi dan sebagai cadangan makanan. Jenis dan jumlah sumber karbon sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang secara tidak langsung mempengaruhi sintesa metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesa oleh suatu organisme, tidak untuk memenuhi kebutuhan primernya seperti tumbuh dan berkembang melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya¹⁹.

Pengujian aktivitas bakteriosin selanjutnya menggunakan media MRS dengan memvariasikan sumber karbon yaitu glukosa, maltosa dan manosa. Tujuannya untuk mengetahui sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan *L. mesenteroides* Pbac1. Hasil percobaan tercantum pada Tabel 4. Media MRS dengan sumber karbon glukosa merupakan



Gambar 4. Kurva penurunan pH selama pertumbuhan *L. mesenteroides* Pbac1 pada berbagai jenis media

media terbaik untuk memproduksi bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1. Titer aktivitas bakteriosin pada media MRS dengan glukosa terhadap *L. plantarum* dan *L. acidilactici* adalah 100 AU/ml sedangkan diameter hambatan rata-rata tertinggi terhadap kedua spesies bakteri indikator tersebut 1,23 cm.

Glukosa merupakan gula yang disukai oleh bakteri sebagai sumber karbon. Glukosa dan manosa merupakan monosakarida sedangkan maltosa merupakan disakarida. Bakteri asam laktat umumnya akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan pH media menjadi rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain⁴.

Di dalam jalur glikolisis, glukosa akan menghasilkan asam piruvat yang selanjutnya akan direduksi menjadi asam laktat dalam kondisi anaerob. Maltosa yang merupakan disakarida tidak dapat memasuki siklus glikolisis sehingga harus dihidrolisa secara enzimatis menghasilkan unit-unit gula sederhana sehingga membutuhkan waktu lebih lama untuk memasuki siklus glikolisis²⁰. Oleh sebab itu maltosa memiliki hambatan pertumbuhan yang lebih kecil dibandingkan glukosa dan manosa.

Tabel 4. Diameter zona hambatan dari bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1 terhadap bakteri indikator pada media MRS dengan sumber C bervariasi

Bakteri Indikator	Sumber Karbon	Konsentrasi		
		1	1/2	1/4
<i>L. plantarum</i>	Glukosa	1,23	0,87	0,79
	Maltosa	0,52	0,39	0,24
	Manosa	0,37	0,54	0,43
<i>L. acidilactici</i>	Glukosa	1,23	1,11	0,90
	Maltosa	0,47	0,32	0,22
	Manosa	0,63	0,47	0,43

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 12 spesies bakteri indikator hanya diperoleh 5 spesies yang menghasilkan zona hambatan terhadap *L. mesenteroides* Pbac1. Dua spesies diantaranya paling sensitif yaitu *L. plantarum* dan *L. acidilactici*.

Pengamatan terhadap empat media yang digunakan disimpulkan bahwa media MRS merupakan media terbaik yang mempengaruhi aktivitas bakteriosin *L. mesenteroides* Pbac1. Diameter zona hambatan rata-rata tertinggi 1,28 cm terhadap *L. plantarum* dan 1,19 cm terhadap *L. acidilactici*. Titer aktivitas bakteriosin yang dihasilkan adalah 100 AU/ml.

Sumber karbon terbaik yang mempengaruhi aktivitas bakteriosin dari *L. mesenteroides* Pbac1 adalah glukosa dengan diameter zona hambatan rata-rata tertinggi 1,23 cm terhadap *L. plantarum* dan *L. acidilactici*. Titer aktivitas bakteriosin yang dihasilkan 100 AU/ml.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pemurnian bakteriosin yang dihasilkan *L. mesenteroides* Pbac1 dan melakukan karakterisasi bakteriosin. Secara umum perlu dilakukan skrining terhadap bakteri indigenous asli Indonesia yang berpotensi menghasilkan bakteriosin.

Daftar Acuan

1. Stiles ME, Hastings JW. Bacteriocins production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends Food Sci Technol* 1991; 2: 247-251.
2. Schillinger U, Lucke FK. Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl and Environ Microbiology* 1989; 55: 1901-1906.
3. Smith JL, Palumbo SA. Micro-organisms as food additives. *J Food Protect* 1981; 44: 936-955.
4. Daeschel MA. Antimicrobial substance from lactic acid bacteria for use as food preservation. *J Food Technol* 1989; 43: 148-155.
5. Schillinger U, Lucke FK. Lactic acid bacteria as products. *Fleischwirtsch* 1990; 70: 1296-1299.
6. Hardy KG. Colicinogeny and related phenomena. *Bacteriological Reviews* 1975; 39: 464-515.
7. Tagg JR, Dajani AS, Wannamaker LW. Bacteriocins of Gram positive bacteria. *Bacteriol Rev* 1976; 40: 722-756.
8. Daeschel MA. Application and interactions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverages. In: Hoover DG, Steenson LR, editors. *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. New York: Academic Press Inc, 1993: 63-91.
9. Klaenhammer T R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *J FEMS Microbial Rev* 1993; 12: 39-86.
10. Upreti GC, Hindsdill RD. Production and mode of action of Lactocin 27: Bacteriocin from a homofermentative *Lactobacillus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1975; 7: 139-145.
11. Muriana PM, Klaenhammer TR. Conjugal transfer of plasmid-encoded determinants for bacteriocin production and immunity in *Lactobacillus acidophilus* 88. *Appl and Environ Microbiology* 1987; 53: 553-560.
12. West CA, Warner PJ. Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193. *FEMS Microbiology Letters* 1988; 49: 163-165.
13. Rammelsberg M, Radler F. Antimicrobial polypeptides

- of *Lactobacillus* species. *J of Appl. Bacteriology* 1990; 69: 177-184.
14. Pinglan L, Zhang C, Li PL., Zhang C. Characterization and application of nisin. *China Dairy Industry* 1997; 25: 18-20.
 15. Ruiz-Barba JL, Cathcart DP, Warner PJ, Diaz RJ. Use of *L. plantarum* LPCG10, a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish-style green olive fermentations. *Appl Environ Microbiol.* 1994; 60: 2059.
 16. El-Shafei. Isolation, screening and characterzation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food. *Microbiol Research* 1999; 154: 321-331.
 17. DeMan JC, Rogosa M, Sharp ME. A medium for cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl Bacteriol* 1960; 23: 130-138.
 18. Sutoyo. *Penapisan bakteri asam laktat asal berbagai sumber bahan hewani dan nabati dalam menghasilkan bacteriosin*. Tesis Magister. Institut Pertanian Bogor, Indonesia, 1998.
 19. Griffin DH. *Fungal physiology*. A Willey Interscience Publication. New York: A Willey Interscience Publication, 1991: 131-168.
 20. Lehninger. *Dasar-dasar Biokimia*. Maggy Thenawidjaja (terjemahan). Jakarta: Penerbit Erlangga, 1994: 84-95.