

ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KIMCHI DAN KEMAMPUANNYA MENGHASILKAN SENYAWA ANTI BAKTERI

BENEDICTA YOLANDA, VINCENTIA IRENE MEITINIARTI

Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Jalan Diponegoro 52-60 Salatiga 50711

ABSTRACT

South Korea is famous for its fermented food called Kimchi, a traditional Korean food fermented from pickled vegetables with a mixture of spicy seasoning. Kimchi is now one of functional food products because of there are lactic acid bacteria that are probiotic and can produce bacteriocin compounds. These bacteriocin compounds may inhibit or have anti-bacterial activity. The purpose of this study was to obtain isolates of lactic acid bacteria from store-bought kimchi and homemade kimchi, to examine the antibacterial agent produced by lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. We conducted a Disk Diffusion Method to tests the bacteriocin activity, and data were descriptively analyzed. The results showed that eight isolates of lactic acid bacteria from store-bought kimchi and homemade kimchi were able to inhibit the growth of tested bacteria, *S. aureus* and *E. coli*. Isolate D1 isolated from store-bought kimchi has largest inhibitory capability against *S. aureus* and *E. coli*; it has 16.00 mm and 17.33 mm inhibitory zone, respectively. Isolate B2 isolated from homemade kimchi has the most significant inhibitory ability against *S. aureus* and *E. coli*; it has 16.67 mm and 17.67 mm inhibitory zone, respectively. The lowest ability to form clear zone was found on isolate D2 isolated from homemade kimchi. The inhibitory zone of produce by strain D2 against *S. aureus* and *E. coli* were 7.67 mm and 8.67 mm, respectively.

KEY WORDS: Kimchi, lactic acid bacteria, bacteriocin, disk diffusion.

Penulis korespondensi: VINCENTIA I MEITINIARTI | email: irene.meitiniarti@staff.uksw.edu

Dikirim: 14-07-2017 | Diterima: 25-08-2017

PENDAHULUAN

Seiring perkembangan ilmu pengetahuan di bidang mikrobiologi pangan, banyak ditemukan bakteri asam laktat (BAL) dalam makanan fermentasi yang dapat menghasilkan senyawa bakteriosin dan senyawa anti bakteri lainnya (Benkerroum *et al.*, 2007; Chen & Hoover, 2003). Senyawa bakteriosin ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain atau memiliki daya anti bakteri. Anti bakteri merupakan kemampuan suatu senyawa yang dapat merusak dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar *et al.*, 2005). Salah satu produk metabolisme bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan seperti ini adalah asam laktat. Menurut Rachmawati *dkk.* (2005), asam laktat adalah senyawa metabolit utama BAL yang mempunyai efek penghambatan karena molekul asam dapat masuk ke dalam membran sel dan menurunkan pH sitoplasma. Selain itu, asam laktat yang dihasilkan oleh BAL dapat menurunkan pH lingkungan dan membunuh bakteri patogen.

Korea Selatan terkenal dengan salah satu makanan fermentasinya ialah Kimchi. Kimchi merupakan makanan tradisional Korea hasil fermentasi dari asinan sayur dengan campuran bumbu pedas. Kimchi selalu dihidangkan di atas piring-piring kecil dalam porsi kecil sebagai salah satu jenis *banchan* (lauk-pauk) paling umum dan terkadang wajib dihidangkan (Kim *et al.*, 2000). Pengolahan Kimchi yang sederhana kini menjadi salah satu produk pangan fungsional karena terdapat BAL yang bersifat probiotik dalam menjaga kesehatan usus, membantu penyerapan makanan, produksi vitamin dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen (Adib, 2015). Bakteri patogen seperti *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif

penyebab infeksi saluran pencernaan yang sering dijumpai akibat keracunan makanan (Rahmawati *dkk.*, 2014). Selain *E. coli*, bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang sering dijumpai pada tubuh manusia tetapi dapat menjadi suatu cemaran pada makanan (Swarbrick, 2004).

Pada bahan-bahan fermentasi Kimchi terdapat nutrisi yang diperlukan BAL untuk berkembang biak. BAL pada fermentasi Kimchi akan menghasilkan asam laktat yang dapat mengawetkan atau memiliki daya anti bakteri. Hasil dari beberapa penelitian ditemukan adanya genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Weissella* dalam fermentasi Kimchi (Kim *et al.*, 2000, Lee *et al.*, 2002, Shin *et al.*, 2014). Bakteri asam laktat hasil dari fermentasi Kimchi juga mampu menghasilkan eksopolisakarida (EPS) tinggi. EPS yang diproduksi BAL berfungsi sebagai bentuk perlindungan sel bakteri terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim dan bentuk pertahanan diri dari sel lain dan bakteriofag (Nudyanto *dkk.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat dari Kimchi kemasan (siap saji) dan buatan (*homemade*) serta mengetahui besarnya kemampuan senyawa anti bakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang diisolasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODE

Isolasi BAL dari Kimchi dibedakan dari Kimchi kemasan (siap saji, merk Ommason Mat Kimchi) dan *homemade* (buatan sendiri). Kimchi ditimbang secara aseptis sebanyak 10 gram dan diblender kemudian disaring. Dibuat seri pengenceran hingga 10^{-7} menggunakan larutan garam fisiologis steril. Dari setiap seri pengenceran diambil 0,1 ml dengan mikropipet secara aseptis dan ditanamkan pada media MRSA yang diperkaya dengan CaCO_3 1% (berfungsi sebagai penanda adanya produksi

Tabel 1. Karakter morfologi koloni dan sel serta karakter fisiologi isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari kimchi kemasan dan *homemade*

Isolat	Karakterisasi													
	Morfologi Koloni				Morfologi Sel				Fisiologis					
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Bentuk Sel	Gram	Warna	KOH	Katalase	MR	VP	Produksi Gas	Dextran	Asetoin
Kimchi Kemasan	A.1	Bundar	Licin	Timbul	Putih Keruh	Coccus	+	Ungu	-	-	+	-	-	-
	B.1	Filiform	Bercabang	Seperti Tombol	Putih Susu	Diplococcus	+	Ungu	-	-	+	-	+	-
	C.1	Bundar Tepian Timbul	Licin	Cembung	Putih Keruh	Coccus	+	Ungu	-	-	+	-	+	-
	D.1	Bundar	Licin	Cembung	Putih Susu	Batang	+	Ungu	-	-	+	-	-	+
Kimchi <i>Homemade</i>	A.2	Bundar	Licin	Cembung	Putih Susu	Diplococcus	+	Ungu	-	-	+	-	+	-
	B.2	Bundar	Licin	Cembung	Putih Susu	Batang	+	Ungu	-	-	+	-	+	-
	C.2	Bundar	Licin	Cembung	Putih Susu	Coccus	+	Ungu	-	-	+	-	+	-
	D.2	Bentuk L Beraturnan	Tak Beraturan	Timbul	Putih Susu	Diplococcus	+	Ungu	-	-	+	-	+	-

Keterangan: + (positif), - (negatif)

asam yang akan menghidrolisis CaCO_3 membentuk zona terang). Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 48 jam. Koloni yang diduga BAL memiliki morfologi warna putih, bulat dan tepian jelas serta terdapat zona bening. Selanjutnya setiap isolat koloni BAL yang berbeda dipindahkan ke media MRSA untuk dimurnikan dan dikarakterisasi morfologi dan beberapa sifat fisiologisnya.

Konfirmasi semua isolat BAL dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi bakteri dan pewarnaan gram, serta beberapa uji fisiologi meliputi uji katalase, uji produksi gas dari glukosa, produksi aseton dan dextran dan uji MRVP (Khedid *et al.*, 2006).

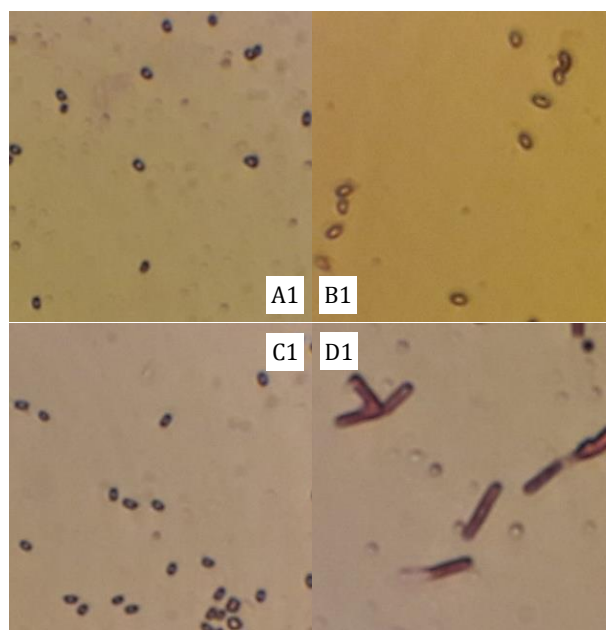
Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diremajakan setiap 2 minggu sekali. Satu ose bakteri indikator diinokulasi ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis steril dan divortex. Kultur bakteri uji dengan OD 1,147 ($\lambda 600 \text{ nm}$) diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml NA yang masih dalam kondisi cair dan divortex. Campuran NA dan bakteri uji dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptik dan ditunggu hingga memadat.

Pengujian aktivitas penghambatan senyawa anti bakteri dilakukan dengan *Disk Diffusion Method*. Masing-masing satu ose isolat BAL pada media MRSA yang telah diidentifikasi ditumbuhkan ke dalam 10 ml media MRSB selama 48 jam. *Paper disk* steril dicelupkan ke dalam media MRSB yang berisi BAL dan didiamkan selama ± 5 menit. Setelah itu, *paper disk* ditanamkan ke dalam media campuran NA dan bakteri uji. Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C . Masing-masing isolat dan perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Untuk kontrol, digunakan kontrol negatif yaitu *paper disk* tanpa BAL yang telah dicelupkan ke dalam akuades steril (EUCAST, 2015).

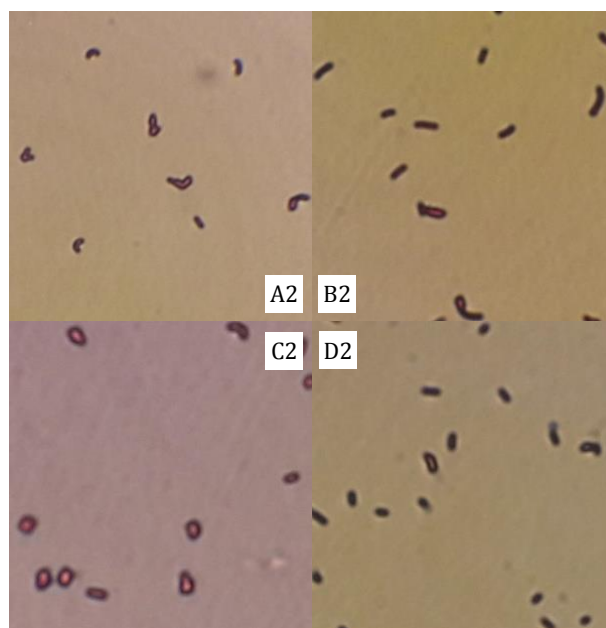
Zona hambat yang terbentuk pada setiap *paper disk* diamati dan diukur dengan menggunakan mistar. Zona hambat yang terlihat merupakan zona terang yang dibentuk oleh BAL terhadap bakteri uji. Data dianalisis dan disajikan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi bakteri asam laktat, didapatkan delapan isolat; masing-masing empat isolat dari Kimchi kemasan dan Kimchi *homemade* (Gambar 1, 2). Berdasarkan hasil karakterisasi, isolat A.2, B.2, C.2 yang diisolasi dari Kimchi *homemade*, memiliki kemiripan morfologi koloni dan karakter fisiologis. Akan tetapi dari pengamatan morfologi sel, ke tiga isolat tersebut memiliki bentuk sel yang berbeda (Tabel 1).



Gambar 1. Morfologi sel isolat A.1, B.1, C.1, D.1 dari kimchi kemasan



Gambar 2. Morfologi sel isolat A.2, B.2, C.2, D.2 dari kimchi *homemade*

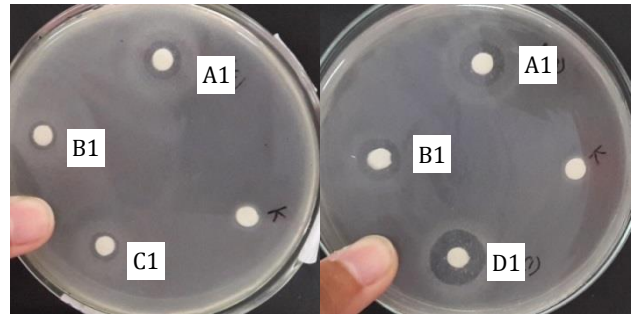
Dari hasil uji fisiologis, diketahui bahwa ke delapan isolat tersebut adalah isolat bakteri asam laktat, yang dicirikan dengan sifat gram positif, katalase dan uji KOH negatif, serta tidak membentuk spora (Tabel 1) seperti yang dinyatakan oleh Nuryady *dkk* (2012). Semua isolat tidak menghasilkan dextran, hal ini berarti menunjukkan bahwa ke delapan isolat tersebut bukan merupakan bakteri asam laktat dari genus *Leuconostoc*. Genus tersebut dapat memproduksi enzim dekstranase sehingga mampu mengubah sukrosa menjadi dextran (Landon *et al.*, 1993).

Pada pengujian aktivitas senyawa anti bakteri, digunakan dua bakteri uji. Dua bakteri uji tersebut adalah bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Adanya aktivitas anti bakteri terlihat dengan terbentuknya zona terang di sekitar *paper disk*. Menurut Rai *et al* (2009), zona hambat yang menunjukkan adanya aktivitas anti bakteri ialah zona hambat yang terang atau jernih, bulat dan luas. Semua isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari Kimchi kemasan dan *homemade* menunjukkan adanya zona hambat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (Gambar 3, 4, 5, 6). Kedelapan isolat bakteri asam laktat menunjukkan kemampuannya menghasilkan senyawa anti bakteri yang relatif sama, akan tetapi jika dibandingkan dengan isolat dari Kimchi kemasan (Gambar 3, 4) dan *homemade* (Gambar 5, 6), isolat dari Kimchi *homemade* menunjukkan kemampuan menghambat yang lebih besar, yang dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk (Gambar 7, 8). Besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kedelapan isolat sudah termasuk diameter *paper disk*, yaitu sebesar 6 mm.

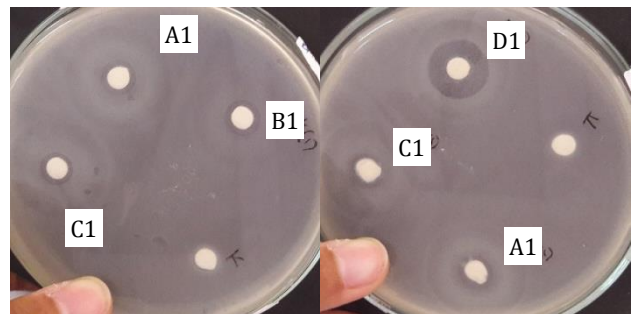
Kemampuan menghambat isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari Kimchi kemasan terhadap bakteri *S. aureus*, menunjukkan diameter zona hambat sekitar 11-16 mm. Sedangkan terhadap bakteri *E. coli*, memiliki diameter zona hambat antara 10-17 mm. Kemampuan zona hambat yang dihasilkan oleh isolat D.1 relatif lebih besar dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari Kimchi *homemade* terhadap bakteri *S. aureus*, menunjukkan diameter zona hambat sekitar 7-15 mm. Sedangkan terhadap bakteri indikator *E. coli*, menunjukkan diameter zona hambat sekitar 8-17 mm. Kemampuan zona hambat yang dihasilkan oleh isolat D.2 cenderung lebih kecil dibanding ketujuh isolat dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji.

Dilihat dari kemampuan zona hambat yang dihasilkan, isolat B.2 asal Kimchi *homemade* tergolong besar dibandingkan isolat-isolat lainnya. Akan tetapi, isolat D.2 asal Kimchi *homemade* tergolong sangat kecil dibanding isolat-isolat lainnya. Diperkirakan aktivitas bakteriosin oleh isolat D.2 merupakan diasetil. Diasetil merupakan hasil produksi metabolisme sitrat oleh beberapa genus bakteri asam laktat. Diasetil bereaksi dengan

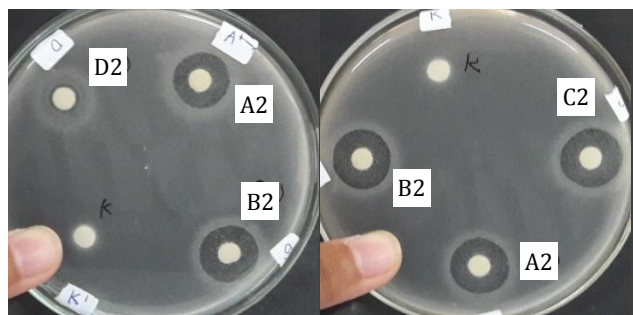
arginine-binding protein pada bakteri gram negatif yang prosesnya mempengaruhi penggunaan arginin (Rachmawati *dkk*, 2005).



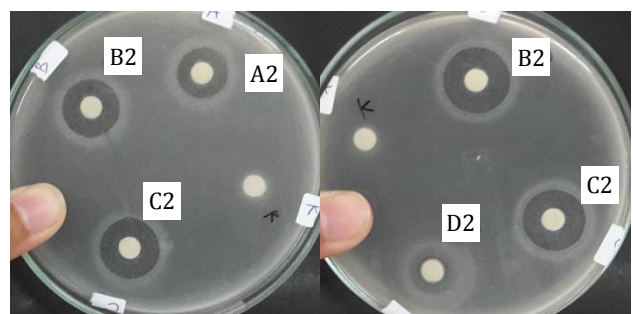
Gambar 3. Zona hambat BAL isolat A.1, B.1, C.1, D.1 dari kimchi kemasan terhadap *S. aureus*



Gambar 4. Zona hambat BAL isolat A.1, B.1, C.1, D.1 dari kimchi kemasan terhadap *E. coli*



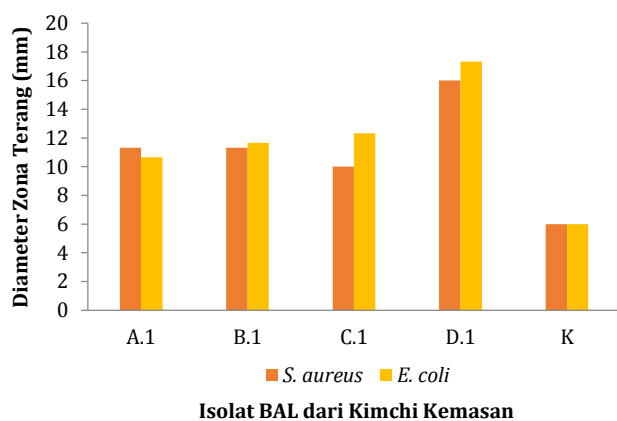
Gambar 5. Zona hambat BAL isolat A.2, B.2, C.2, D.2 dari kimchi *homemade* terhadap *S. aureus*



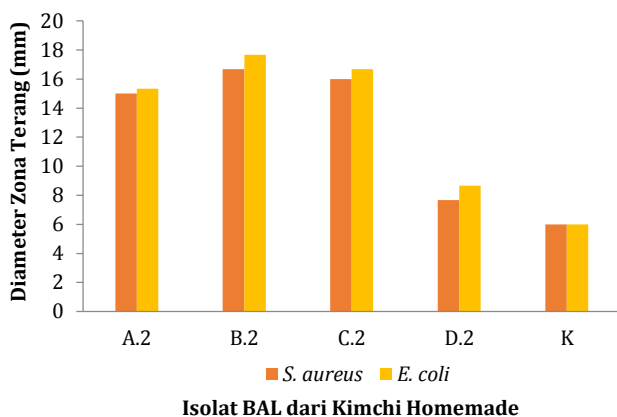
Gambar 6. Zona hambat BAL isolat A.2, B.2, C.2, D.2 dari kimchi *homemade* terhadap *E. coli*

Secara keseluruhan kedelapan isolat bakteri asam laktat memiliki kemampuan zona hambat relatif baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Dalam penelitian Ogunbanwo *et al* (2003), menyatakan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam

laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Vibrio cholera*. Hal tersebut dapat disebabkan dinding sel bakteri gram negatif hanya berkisar 10–15 nm, lebih tipis dibandingkan dinding sel gram positif yang berkisar 15–23 nm, umumnya sasaran bakteriosin adalah mengganggu dinding sel atau membran (Sullivan *et al.*, 2002) dengan menghambat biosintesis dinding sel atau menyebabkan pembentukan pori sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Mohankumar *et al.*, 2011). Beberapa bakteri gram positif dapat bertahan dalam lingkungan asam sedangkan bakteri gram negatif tidak, sehingga hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab penghambatan bakteri gram negatif (Geo *et al.*, 2001).



Gambar 7. Diameter zona hambat isolat BAL dari kimchi kemasan terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*



Gambar 8. Diameter zona hambat BAL dari kimchi homemade terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*

Menurut Daeschel (1993), bakteri asam laktat hanya sedikit memproduksi bakteriosin dibandingkan asam organik. Meskipun begitu, aktivitas bakteriosin pada isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari kimchi kemasan dan homemade memiliki kemampuan zona hambat yang lebih besar dibandingkan zona hambat isolat bakteri asam laktat genus *Leuconostoc* asal asinan sawi yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *E. coli* sebesar 4,67 mm, bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* sebesar 5,16 mm dan sebesar 5,50 mm pada penghambatan bakteri gram positif *S.*

aureus dalam penelitian Rachmawati *dkk* (2005). Sedangkan isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari sampel air penggumpal tahu hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berkisar 6–8 mm dan pada penghambatan bakteri *Bacillus subtilis* berkisar 7–8 mm (Bella, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa delapan isolat bakteri asam laktat dari Kimchi kemasan dan homemade mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, *S. aureus* dan *E. coli*. Kemampuan zona hambat terbesar bakteri asam laktat asal Kimchi kemasan adalah isolat D.1 sebesar 16 mm terhadap *S. aureus* dan 17,33 mm terhadap *E. coli*. Zona hambat terbesar asal Kimchi homemade adalah isolat B.2 sebesar 16,67 mm terhadap *S. aureus* dan 17,67 mm terhadap *E. coli* sedangkan zona hambat terkecil adalah isolat D.2 asal Kimchi homemade sebesar 7,67 mm terhadap *S. aureus* 8,67 mm terhadap *E. coli*.

DAFTAR REFERENSI

- Adib A. 2015. Fungsi Probiotik dalam Saluran Cerna dan Kesehatan [Internet]. Binus University Food Department of Food Technology [cited 21 Feb 2017]. Available from: <http://foodtech.binus.ac.id/2015/07/08/fungsi-probiotik-dalam-saluran-cerna-dan-kesehatan/>
- Bella D. 2016. Aktivitas Bakteriosin Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Penggumpal Tahu Alami [Skripsi]. Salatiga: Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana.
- Benkerroum N, Ghouati Y, Ghalfi H. 2007. Screening for Bacteriocin-producing Lactic Acid Bacteria from Various Moroccan Food Products and Partial Characterization of Putative Bacteriocins. *Biotechnology* 6: 481–488.
- Daeschel MA. 1993. Application and Interactions of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria in Foods and Beverages. In *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. New York: Academic Press Inc.
- EUCAST. 2015. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease. Available from: www.eucast.org
- Geo FB, Janet SB, Stephen AM. 2001. Mikrobiologi Kedokteran Edisi I. Jakarta: Salemba Medika.
- Khedid K, Faid M, Mokhtari A, Soulaymani A, Zinedine A. 2006. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the One Humped Camel Milk Produced in Morocco. *Microbiological Research* 164 (2009): 81–91.
- Kim J, Chun J, Han H. 2000. *Leuconostoc kimchii* sp. nov., A New Species from Kimchi. Republic Korea: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1915–1919.
- Landon RS, Hudson FW, Kramerand C. 1993. A Model Dextranucrase Synthesis by *Leuconostoc mesenteroides*. *Trans Ichem E72 Part C – December*, 209–215.
- Lee JS, Lee KC, Ahn JS, Mheen TI, Pyun YR, Park YH. 2002. *Weissella koreensis* sp. nov., Isolated from Kimchi. *Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology*. 52 (4): 1257–1261.
- Mohankumar A, Murugalatha. 2011. Characterization and Antibacterial Activity of Bacteriocin Producing *Lactobacillus* Isolated from Raw Cattle Milk Sample. *International Journal of Biology* 3 (3): 1916–9671.
- Nudyanto A, Zubaidah E. 2015. Isolasi BAL Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (2): 743–748.
- Nuryady, Moh Mirza, Istiqomah T, Faizah R, Ubaidillah S, Mahmudi Z, Sutoyo. 2012. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Yoghurt. *UNEJ Jurnal I* (5): 1–11.

- Ogunbanwo ST, Sanni AL, Onilude AA. 2003. Characterization of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OGI. Departement of Botany and Microbiology University of Ibadan, Nigeria African. Academic Journals ISSN 1684–5315 [Internet]. [cited 14 May 2017]. Available from: <http://www.academicjournals.org/AJBNl>
- Pelczar MJ, Chan ES. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi (Terjemahan). Jakarta: UI Press.
- Rachmawati I, Suranto, Setyaningsih R. 2005. Uji Antibakteri Bakteri Asam Laktat asal Asinan Sawi Terhadap Bakteri Patogen. Jurnal Bioteknologi 2 (2): 43–48.
- Rahmawati N, Sudjarwo E, Widodo E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Ilmu Peternakan 24 (3): 24–31.
- Rai AK, Bhaskar N, Amami PM, Indirani K, Suresh PV, Mahendrakar MS. 2009. Characterization and Application of Native Lactic Acid Bacterium Isolated from Tannery Fleshing for Fermentative Bioconversion of Tannery Fleshing. Application Microbiology Biotechnology 83: 757–766.
- Shin HK, Cho YM, Noh GM, Om AS. 2014. Cancer Preventive Potential of Kimchi Lactic Acid Bacteria (*Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*). Journal of Cancer Prevention 19: 253–258.
- Sullivan LO, Ross RP, Hill C. 2002. Potential of Bacteriocin-producing Lactic Acid Bacteria for Improvements in Food Safety and Quality. Biochemie 84 (5-6): 593–604.
- Swarbrick J. 2004. Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry. Volume 142. New York: Marcel Dekker Inc.