

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PENGHASIL BAKTERIOSIN DARI  
MAKANAN BOTOK IKAN TONGKOL (*Euthynnus affinis* C) KHAS KALIMANTAN BARAT  
YANG MEMILIKI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

**Hairunnisa, Rafika Sari M.farm.,Apt,**

Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

**ABSTRAK**

Bakteri Asam laktat (BAL) merupakan Mikroorganisme yang tergolong GRAS (Generally Recognized As Safe). BAL memiliki potensi sebagai penghasil bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang disintesis oleh ribosom dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kandungan bakteriosin dan untuk melihat aktivitas bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tahapan yang dilakukan pada penelitian ini adalah identifikasi BAL berdasar karakterisasi morfologis, biokimiawi, fisiologis, uji aktivitas penghambatan bakteriosin terhadap bakteri uji, dan uji sensitivitas bakteriosin terhadap enzim proteolitik. Parameter morfologis berupa bentuk sel dan pewarnaan gram. Parameter biokimiawi salah satunya adalah uji katalase, uji fisiologis meliputi pH, suhu, dan kadar garam. Hasil penelitian diperoleh bahwa isolat BAL sel berbentuk batang, gram positif, katalase negatif, dan diduga isolat BAL mampu menghasilkan bakteriosin. Bakteriosin yang diproduksi tersebut dapat terdegradasi oleh enzim Proteinase K. Isolat BAL teridentifikasi sebagai *Lactobacillus brevis* merupakan kandidat isolat BAL terbaik karena menghasilkan bakteriosin dan menghambat pertumbuhan *Stapylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Salmonella thypimurium* dengan indeks penghambatan masing-masing

**Kata Kunci :** Bakteri asam laktat, Bakteriosin, Botok ikan tongkol, *lactobascillus brevis*

**ABSTRACT**

Lactid acid bacteria (LAB) are microorganisms include in group of generally recognized as safe. Bacteriocin is ribosomally synthesized protein able to inhibit the growth of other bacteria. The aim of this research were to look at the content of bacteriocins and to look activity of bacteriocins that can inhibit pathogenic bacteria. The steps of the research is the identification of lactid acid bacteria was based morphological, biochemical, physiological, detection the inhibition activity of culture against phatogenic bacteria and bacteriocin sensitivity to proteolytic enzyme. The morphological characteristic were shape cell and gram test. The biochemical characteristic was catalase test. The physiological characteristic was pH, temperature and salinity. The result obtained isolates of Lactid acid bacteria, rod and coccus, gram positive, catalase negative and were able to produce bacteriosin. All of bacteriocinproduced were degraded by proteolytic enzymes, proteinase K. Isolates LAB was identified as *Lactobacillus brevis*, the best candidate of bacteriocin producer against *Stapylococcus aureus*, *Eschericia coli* and *Salmonella thypimurium* with inhibition indexes.

## PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) adalah jenis bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah yang besar. Ciri-ciri bakteri asam laktat secara umum adalah selnya bereaksi positif terhadap pewarnaan gram, bereaksi negative terhadap katalase dan tidak membentuk spora, dan fermentasi glukosa akan dihasilkan asam laktat. Tipe fermentasi bakteri asam laktat meliputi homofermentatif yaitu hasil fermentasinya hanya asam laktat dan heterofermentatif yang hasil fermentasinya disamping asam laktat ada asam organik lainnya seperti asetat, CO<sub>2</sub> dan etanol. Beberapa marga bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus*. (Ariyanti,2003).

Bakteriosin sebagai agen biopreservatif sangat potensial digunakan untuk mengendalikan beberapa bakteri kontaminan, tetapi secara komersial ketersediaannya masih sedikit dan harganya sangat mahal. Dilain pihak koleksi BAL di Indonesia dapat dimanfaatkan untuk produksi bakteriosin tersedia cukup banyak. Oleh karena itu penelitian produksi bakteriosin yang potensial perlu dilakukan. (Usmiati, 2007) sebagai upaya untuk meningkatkan peran bakteriosin sebagai bahan pengawet maka perlu dicari sumber-sumber isolat BAL yang baru sebagai penghasil bakteriosin.

Produk pangan yang banyak dikembangkan sebagai pangan fungsional antara lain adalah produk-produk probiotik. Probiotik merupakan bakteri hidup yang diberikan melalui mulut sebagai menu tambahan sehari-hari. Cartney (1997) melaporkan bahwa bakteri probiotik menjaga kesehatan usus, membantu penyerapan makanan, produksi vitamin, dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Selain itu dapat meningkatkan fungsi sistem kekebalan

tubuh, metabolisme kolesterol, karsinogenesis, dan menghambat penuaan. Produk makanan yang berkhasiat terapeutik lebih dikenal dengan istilah makanan fungsional. Salah satu makanan fungsional adalah makanan yang mengandung probiotik yaitu mikroba hidup yang bila dikonsumsi akan menimbulkan efek terapeutik pada tubuh dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan (Malaka, 2005)

Salah satu produk probiotik yang diduga mengandung bakteri asam laktat yaitu makanan botok ikan tongkol. Ikan tongkol (*Euthynnus affinis* C) merupakan ikan dengan nilai ekonomis tinggi yang dengan kandungan gizi yaitu dengan kandungan protein yang tinggi yaitu 26,2mg/100g, karbohidrat 27,2 mg/100g dan kaya akan kandungan asam lemak omega<sup>3</sup>. Pada penelitian ini akan dilakukan skrining bakteri asam laktat (BAL) penghasil bakteriosin dari makanan botok ikan tongkol khas Kalimantan Barat yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen.

## BAHAN DAN METODE

Botok ikan tongkol, NaOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, indikator phenol red, safranin, media MRS (agar dan broth), media glukosa cair, NaCl, Kristal violet, ammonium oksalat dan iod.

Alat yang digunakan adalah peralatan analisis berupa alat-alat gelas, timbangan elektrik, autoklave, lampu Bunsen, inkubator, aluminium foil, jarum ose, mikropipet.

## METODE PENELITIAN

### 1. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Botok

Sampel botok yang diperoleh diblender, kemudian diencerkan dalam media MRS cair sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Sampel diambil 1,0 ml dengan menggunakan mikropipet. Kemudian dimasukkan kedalam media MRS broth pada tabung reaksi pertama yang sudah berisi

media MRS broth. Pada pengenceran  $10^{(2)}$  ini dilakukan dengan mengambil 1,0 ml sampel pada pengenceran 10 ml. kemudian dimasukkan ke media MRS broth dalam tabung reaksi kedua. Pengenceran ini dilakukan hingga diperoleh pengenceran  $10^{(3)}$  (Hadioetomo,1985). Pengenceran  $10^{-10}$  yang diperoleh diambil dengan menggunakan ose bulat sebanyak 1 ose. Kemudian dilakukan inokulasi ke dalam medium MRS agar dengan membagi cawan Petri ke dalam empat kuadran yaitu kuadran 1, kuadran 2, kuadran 3, dan kuadran 4 dilakukan metode gores (*streak plate method*) membentuk *zig zag* bersambung tiap kuadran. Diinkubasi cawan petri selama 7 hari pada suhu 37C.(Todorov and Dicks,2004).

## 2. Identifikasi bakteri asam laktat

isolat yang diperoleh dari kultur media MRS agar dilakukan identifikasi dengan beberapa pengujian. Identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat yang diperoleh dengan berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt et al, 1994) dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia.

### Biokimia

#### A. Pewarnaan Gram,

preparat ditetesi dengan *Kristal violet* didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquades lalu dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan *iodine* dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan *alkohol* 99% sampai warna ungu hilang selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati dengan mikroskop, uji gram positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah. Dari hasil pengecatan gram ini juga dapat digunakan untuk melihat bentuk dan susunan sel. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 1000x pada mikroskop.

#### (B) Uji katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan kurang lebih 2 tetes  $H_2O_2$  3% yang berumur 24 jam. Reaksi positif uji katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung yang berarti ada pembentukan gas oksigen ( $O_2$ ) sebagai hasil pemecahan  $H_2O_2$  oleh enzim katalase yang diproduksi dari enzim tersebut. Bakteri asam laktat termasuk bakteri katalase negatif sehingga hasil uji katalase tidak terbentuk gelembung udara yang berarti tidak terbentuk gas.

#### (C) Uji motilitas

secara aseptis dengan menggunakan jarum ose ditusukkan ke dalam media yang mengandung agar 0,5% (agar lunak). Diinkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 2 hari. Hasil dikatakan negatif (-) jika terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar hanya pada bekas tusukan inokulasi. Hasil dikatakan positif (+) jika terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi.

#### (D) Uji simmon sitrat

Apabila bakteri menggunakan *simmon citrat* sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru. Hasil yang didapat yaitu hasil negatif (-) jika tidak terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease. Jika hasil yang didapat positif (+) jika terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru, artinya kuman menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon.

#### (E) Uji indol

Media yang dipakai adalah pepton 1%. Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur diinokulasikan dengan cara ditusuk pada media, lalu diinkubasi pada suhu 37C selama 2x24 jam. Adanya indol dapat diketahui dengan penambahan reagen *Ehrlich/Kovac's* yang berisi paradimetil amino benzaldehid. Hasil negatif (-) jika tidak terbentuk lapisan cincin berwarna

merah pada permukaan biakan, hasil positif (+) jika terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan.

### **(F) uji fermentasi gula dan fermentasi karbohidrat**

Dilakukan dengan menggunakan sumber karbon yaitu glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa, dan mannitol. Masing-masing sumber karbon 5gr/l dicampur MRSB kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi tabung durham sebanyak 8 ml. lalu isolat berumur 24 jam dimasukkan kedalam tabung dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari.

### **B. Fisiologis**

Karakteristik secara fisiologis pada penelitian ini untuk mengamati pertumbuhan isolat bakteri asam laktat terhadap perbedaan suhu dan pH.

#### **A. Suhu**

Bakteri yang sudah diisolasi dan diidentifikasi dibuat biakan murni. pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat penghasil bakteriosin dilakukan dengan cara inkubasi bakteri dalam MRS broth pada suhu 15°C, 37°C, dan 45°C selama 24 jam. Pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS broth.

#### **B. pH**

Pengaruh pH terhadap isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat dalam MRSB dengan variasi pH 3, 5, 6, 9. Dengan penambahan 1 N NaOH atau 1 N HCL kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS broth.

#### **C. Kadar Garam**

Sedangkan pengaruh isolat penghasil bakteriosin terhadap kadar garam dengan cara isolat ditumbuhkan dalam MRS broth dengan variasi kadar NaCL 2%, 4%, 6,5% selama 24 hari. Pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS broth.

### **3. Uji Aktivitas Bakteriosin**

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator menggunakan metode cakram. Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRS cair 5,0 mL, kemudian divortex hingga homogen, dan setelah itu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 1600 xg pada suhu 4°C selama 15 menit. Filtrat dinetralkan hingga pH 6.0 menggunakan pH meter dengan menambahkan larutan NaOH 1 N. Filtrat disterilkan dengan filter millipore untuk memperoleh supernatan antibakteri. Kemudian media dipersiapkan yaitu media NA yang telah dicampur dengan bakteri indikator. Bakteri indikator yang akan diujikan yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Setelah media memadat cakram-cakram kertas saring berdiameter 6 mm diletakkan diatas permukaan agar kemudian sebanyak 50 µm supernatan antibakteri dimasukkan kedalam sumur, kemudian diletakkan selama 1 jam agar supernatan antibakteri dapat berdifusi kedalam agar. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C. Hasil pengamatan positif jika menghasilkan zona jernih berdasarkan uji aktivitas yang dilakukan. Isolat BAL yang dapat memberikan hambatan terhadap bakteri indikator dilanjutkan dengan uji konfirmasi menggunakan enzim Proteinase K.

Hasil pengamatan positif jika menghasilkan zona jernih berdasarkan uji aktivitas yang dilakukan. Isolat BAL yang dapat memberikan hambatan terhadap bakteri indikator dilanjutkan dengan uji konfirmasi menggunakan enzim Proteinase K.

### **4. Uji Aktivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik**

Supernatan antibakteri sebanyak 250 µL dicampur dengan 750µL enzim protease K konsentrasi 1 mg/ml dilarutkan dalam dapar pospat pH 7,5 kemudian diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C. Filtrat disterilkan

dengan Filter Millipore berdiameter 0,22 $\mu$ m kedalam tabung steril. Sebanyak 1,0 mL inokulum bakteri indikator  $10^7$  bakteri/mL dicampur homogen dengan 4 mL media *seed layer* MRS kemudian dituang merata diatas permukaan media base layer, dan selanjutnya dilakukan sebagaimana pada uji aktivitas antibakteri. Setelah media memadat, lubang dibuat pada media agar tersebut menggunakan sumuran logam berdiameter 6mm dan tinggi 1 cm. Sebanyak 50 $\mu$ m supernatan antibakteri dimasukkan kedalam sumur, kemudian didiamkan selama 1 jam agar supernatan antibakteri dapat berdifusi ke dalam agar dan diinkubasi pada suhu 37°C.

Hasil pengamatan zona jernih yang terbentuk akan hilang akibat perlakuan dengan enzim Proteinase K. Ini membuktikan karakteristik umum dari bakteriosin sebagai protein alami.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat berasal dari sampel botok ikan tongkol (*Euthynus affinis C*) yang diperoleh dari rumah makan di Jalan Parit Bugis di Kabupaten Kuburaya Provinsi Kalimantan Barat. Isolasi bakteri merupakan suatu teknik untuk mendapatkan koloni tunggal dari suatu bakteri. Media yang digunakan pada isolasi adalah media selektif yaitu de Man Rogosa Sharpe Agar / MRSA yang bertujuan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan mendapatkan koloni bakteri yang diharapkan.

Proses isolasi bakteri digunakan metode dengan cara goresan (*streak plate method*). Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan kembali koloni pada MRS agar secara gores dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang ditandai dengan timbulnya koloni berwarna putih pada media (Goktepe, 2005) hasil isolasi BAL dapat dilihat pada Gambar 1.

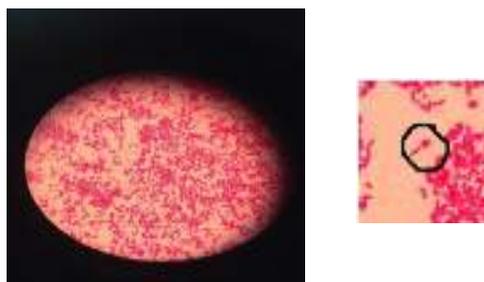


**Gambar 1.** Bentuk koloni BAL pada media MRSA.

Dari hasil isolasi yang dilakukan diperoleh koloni tunggal dari sampel botok ikan tongkol (*Euthynus affinis C*) yang disebut sebagai isolat sebanyak satu isolat yang memiliki bentuk dan warna pada masing-masing kuadran goresan.

#### 1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Pengamatan mikroskop dengan pewarnaan gram menunjukkan hasil pengujian bahwa sel bakteri berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi termasuk dalam golongan bakteri gram positif dengan bentuk batang yang diduga dari genus *Lactobacillus*. Bakteri gram positif mempunyai ciri dinding sel dengan peptidoglikan yang lebih tebal sehingga penyerapan cat Kristal violet yang terserap dalam sel akan bertahan walaupun dilakukan pencucian dengan menggunakan cat peluntur (alkohol) yang diharapkan dapat melunturkan warna cat pertama. Dengan bertahannya cat warna Kristal violet yang berwarna ungu didalam sel bakteri maka cat gram D (safranin) sebagai cat lanjutan tidak akan bisa terserap lagi, sehingga warna sel akan tetap berwarna seperti warna cat yang dipakai pertama (cat Kristal violet). Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil Pewarnaan Gram

No	Uji Biokimia	Hasil
1.	Uji Katalase	Negatif
2.	Uji Motilitas	Negatif
3.	Uji Simmon Sitrat	Negatif
4.	Uji Urea	Negatif
5.	Uji Indol	Negatif
6.	Uji Fermentasi gula	Positif
7.	Uji Fermentasi Karbohidrat	Positif

uji katalase menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diuji menunjukkan hasil uji berupa katalase negatif dimana tidak terbentuknya gelembung pada object glass yang terdapat cairan H<sub>2</sub>O saat diolesi bakteri. Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim katalase yang dapat mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji motilitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui gerak dari bakteri. Hasil uji motilitas menunjukkan bahwa isolat bakteri bersifat nonmotil yang ditandai dengan adanya penyebaran berwarna putih pada lokasi tusukan inokulasi yang berarti bakteri tidak memiliki flagel. Uji sitrat dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber energy apabila tidak ada laktosa dan glukosa. Hasil uji simmon sitrat pada sampel botok ikan tongkol menunjukkan hasil negatif yang artinya tidak terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Uji urea dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri mempunyai enzim urease yang dapat menguraikan urea membentuk amoniak. Pada uji ure digunakan urea yang berisi indikator fenol merah. Hasil uji menunjukkan bahwa sampel botok ikan tongkol menunjukkan hasil yang negatif yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna media menjadi merah muda yang artinya bakteri tidak memecah urea membentuk amoniak. Uji indol diperoleh hasil yang negatif karena tidak terbentuk lapisan (cincin) berwarna merah muda pada biakan. Uji fermentasi gula didapatkan hasil

bahwa isolat BAL mampu memfermentasi gula yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning. Untuk uji fermentasi karbohidrat media yang dipakai adalah media TSIA yang berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa dengan menggunakan indikator fenol merah. Hasil uji fermentasi karbohidrat didapatkan bahwa isolat BAL mampu memfermentasikan karbohidrat yang ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning. Dari semua uji biokimia isolat BAL diduga genus *Lactobacillus brevis*

#### 1. Uji Fisiologis

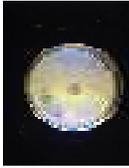
uji fisiologis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui karakteristik fenotip dari isolat bakteri yang didapat, sehingga dapat disimpulkan genus dan spesies isolat bakteri dari sampel botok ikan tongkol, selain untuk mengetahui genus dan spesies dari isolat bakteri yang didapat, uji fisiologis juga bertujuan untuk melihat ketahanan isolat bakteri asam laktat (BAL) pada kondisi pH, suhu, dan kadar garam. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media terlihat koloni yang berwarna putih. Hasil pengujian suhu pada sampel botok ikan tongkol menunjukkan bahwa isolat hanya dapat tumbuh pada suhu 37°C. Pengujian pH pada isolat bakteri asam laktat bertujuan untuk melihat pengaruh isolate terhadap kondisi pH 3, 5, 7, 6, dan 9. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media berubah menjadi keruh. Hasil pengujian pH pada sampel botok ikan tongkol menunjukkan bahwa isolate dapat tumbuh pada semua kondisi pH yang diujikan. Pengujian kadar garam isolat bakteri asam laktat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kondisi kadar NaCl 2%, 4%, dan 6%. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media terjadi perubahan warna. Hasil pengujian kadar garam pada sampel botok ikan tongkol menunjukkan bahwa isolat dapat tumbuh pada semua kondisi kadar garam yang diujikan.

### 1. Uji Sifat Antibakteri Bakteriosin

Pengujian sifat antibakteri dilakukan dengan tujuan untuk dapat mengetahui aktivitas antibakteri bakteriosin dari isolate bakteri asam laktat (BAL). Bakteri dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri bakteriosin ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar cakram yang berarti isolate BAL memberikan aktivitas dalam menghambat bakteri patogen. Pengujian uji aktivitas antibakteri bakteriosin disajikan pada table berikut ini

Bakteri indikator	Zona Hambat (Mm)			
	I	II	III	Rata
<i>E.coli</i>	10	10	9,8	9,9
<i>S.aureus</i>	10	10,2	10	10,0
<i>S.typhi</i>	8,5	8,5	8,7	8,5

Hasil yang didapatkan dari pengujian aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa isolat yang teridentifikasi *Lactobacillus brevis* dapat menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen. hal ini sesuai dengan deskripsi fatin lilianingtyas (2006) bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* memiliki aktivitas antimikroba terhadap ketiga bakteri patogen (Rai, 2009).

<i>Eschericia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		

Adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri indikator setelah inkubasi 1 hari yang ditandai dengan timbulnya zona jernih disekitar koloni yang tumbuh dimedia lapisan bawah. Zona jernih timbul karena bakteri indikator tidak tumbuh yang berarti bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri indicator. Zona jernih yang timbul sangat bervariasi. Menurut Rai

(2009), bakteriosin menghasilkan zona jernih yang jelas, bulat, dan luas. Jika tidak demikian diperkirakan akibat aktivitas asam, hydrogen peroksida, atau diasetil. Kemampuan membentuk zona jernih berbeda-beda tergantung jenis bakteri, konsentrasi bakteriosin, dan kandungan nutrisi dalam media( Rai, 2009)

### 2.Uji Antivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Pada uji aktivitas bakteriosin digunakan enzim proteolitik dengan tujuan untuk uji konfirmasi untuk memastikan bahwa substansi antibakteri yang dihasilkan oleh *L.brevis* merupakan bakteriosin sebagai antibakteri. Bakteriosin merupakan ikatan disulfida dengan penambahan enzim proteolitik maka ikatan tersebut dirusak sehingga aktivitas bakteriosin menjadi hilang yang ditandai dengan hilangnya zona jernih. Sehingga dapat disimpulkan bahwa antibakteri yang dihasilkan isolat *L.brevis* merupakan aktivitas bakteriosin.

### KESIMPULAN

Pada makanan botok ikan tongkol khas Kalimantan Barat mengandung bakteri asam laktat sebanyak 1 (satu) isolat. Hasil identifikasi bakteri asam laktat pada sampel makanan botok ikan tongkol teridentifikasi sebagai kelompok *Lactobacillus brevis*. Hasil skrining bakteriosin terhadap isolat bakteri asam laktat menunjukkan adanya zona hambatan terhadap ketiga bakteri patogen

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ariyanti. D.Evaluasi Pendahuluan Beberapa Strain Bakteri Asam Laktat Yang Diduga Berpotensi Sebagai Probiotik. Skripsi. Yogyakarta. UGM, 2003
- [2]De Vyust, L., and F. Leroy 2007. Bcteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. J. Moleculer Microbiol. Biotechnol. 13: 194-199

- [3] Goktepe I, Vujay KJ, dan Mohamed A. Probiotics in Food Safety and Human Health Boca Raton: CRC Press; 2005.
- [4] Hadioetomo, R.S. 1999. Mikrobiologi pangan dalam produk teknik dan prosedur dasar laboratorium. Gramedia. Jakarta
- [5] Holt. G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. & Williams, S.T. 2000. Bergey's Manual Determinative Bacteriology. Bakteri Asam Laktatimore: William and Wilkins Bakteri asam laktatimore
- [6] Hasanuddin Universitas Hasannudin Makasar, Sulawesi Selatan. 2005
- [7] Malaka, Ratmawati., dan Laga, Amran. Isolasi dan Identifikasi *Lactobacillus bulgaricus Strain Ropy* dari Yoghurt Komersial, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Universitas Hasannudin Makasar, Sulawesi Selatan. 2005.
- [8] Pratiwi., S. 2008. Mikrobiologi Farmasi, Jakarta: Penerbit Erlangga
- [9] Widyastuti, Y., Sofarianawati, E. 1999. Karakter Bakteri Asam Laktat Enterococcus sp. Yang diisolasi Dari Saluran Pencernaan Ternak. Jurnal Mikrobiologi Indonesia 4. 50-53