

**OPTIMASI AKTIVITAS BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH
Lactobacillus plantarum BERDASARKAN UJI VARIASI WAKTU INKUBASI
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

TRI WAHYUNI PONGARRANG

H411 14 032



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

**OPTIMASI AKTIVITAS BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH
Lactobacillus plantarum BERDASARKAN UJI VARIASI WAKTU
INKUBASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

TRI WAHYUNI PONGARRANG

H411 14 032

*Skripsi ini Dibuat untuk Melengkapi Tugas Akhir dan Memenuhi Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*

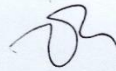
**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN OPTIMASI AKTIVITAS BAKTERIOSIN YANG
DIHASILKAN OLEH *Lactobacillus plantarum* BERDASARKAN UJI VARIASI WAKTU
INKUBASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

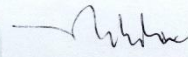
Disusun dan diajukan oleh
TRI WAHYUNI PONGARRANG
H411 14 032

Disetujui oleh :
Pembimbing Utama



Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si.
NIP. 196512091990082001

Pembimbing Pertama



Dr. Nur Haedar, M. Si
NIP.196801291997022001

Ketua Departemen



Dr. Nur Haedar, M. Si
NIP.196801291997022001

Makassar, 15 oktober 2021

Pernyataan Keaslian Tesis

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : TRI WAHYUNI PONGARRANG

NIM : H411 14 032

Departemen: Biologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya bukan merupakan pengambil alih tulisan dan pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa skripsi ini merupakan karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan saya tersebut.

Makassar 15 oktober 2022

Yang menyatakan



TRI WAHYUNI PONGARRANG

KATA PENGANTAR

Segala puji kepada tuhan yang maha kuasa, oleh karena anugrah-nya yang melimpah, kemurahan dan kasih yang setia yang besar Sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi dengan judul **“OPTIMASI AKTIVITAS BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH *Lactobacillus plantarum* BERDASARKAN UJI VARIASI WAKTU INKUBASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*.”** yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan studi Strata Satu (S1)” Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Penulis juga sangat bersyukur selama menjalankan studi di Departemen Biologi FMIPA Unhas bisa dilalui dengan baik dan maksimal. Tentunya capaian ini tak terlepas dari dukungan dari bapak/ibu dosen, keluarga, serta teman-teman penulis. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan bahwa karya ilmiah seperti skripsi ini tidaklah mudah, oleh karena itu tidak tertutup kemungkinan dalam penyusunan skripsi ini terdapat kekurangan, sehingga penulis sangat mengharapkan masukan, saran dan kritikan yang bersifat membangun guna kesempurnaan skripsi ini. Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai rintangan, mulai dari pengumpulan literatur, pelaksanaan penelitian, pengolahan data maupun dalam tahap penulisan. Namun berkat doa, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada kedua orang tuaku tercinta Ayahanda Daniel Kende dan Debora Sumbang yang

selalu mengingatkan dan menyemangati saat penyusunan laporan ini selesai. Begitu banyak suka cita yang penulis rasakan selama menyusun skripsi selain kedua orang tua penulis juga mendapat dukungan dari begitu banyak terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada:

- Ibu Rektor Universitas Hasanuddin **Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA beserta seluruh staf.**
- Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin **Bapak Dr. Eng. Amiruddin beserta seluruh staf.**
- Ibu Ketua Departemen biologi **Dr. Nur Haedar, M.Si beserta staf** Departemen Biologi FMIPA UNHAS.
- Tim dosen pembimbing **Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si., Dr. Nur Haedar, M.Si**
- Seluruh keluarga, rekan, sahabat yang semuanya tak bisa penulis sebutkan satu persatu, terima kasih untuk motivasi dan do'anya.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi siapapun yang membutuhkannya untuk kemajuan dan pengembangan ilmu pengetahuan. Aaamiin.

Makassar, Mei 2021

Penulis

ABSTRAK

Lactobacillus plantarum tergolong sebagai Bakteri Asam Laktat yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan manusia. Bakteri ini diketahui dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yakni bakteriosin yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen sehingga bermanfaat dalam bidang kesehatan sebagai antimikroba dan produk pangan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi dari *Lactobacillus plantarum* dalam menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen perusak bahan makanan yakni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dalam produksi antimikroba perlu diketahui data tentang waktu optimal produksi senyawa metabolit tersebut dan aktivitas antimikrobanya maka pertumbuhan *L. plantarum* pada waktu inkubasi 24 jam hingga 72 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan terhadap daya hambat bakteri patogen Gram positif *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif *Escherichia coli*. Data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona bening kemudian dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* memiliki penghambatan terbesar pada waktu pengamatan 72 jam (27 mm), sedangkan terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan aktivitas penghambatan yang sama besarnya pada waktu pengamatan 48 jam maupun 72 jam (19 mm). Kloramfenikol sebagai kontrol positif memiliki aktivitas penghambatan terbesar pada waktu pengamatan 24 jam untuk bakteri *S. aureus* (30 mm), sedangkan untuk *E. coli* terjadi pada waktu pengamatan 72 jam (28 mm).

Kata kunci : *Lactobacillus plantarum*, senyawa metabolit, antimikroba, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Lactobacillus plantarum is classified as lactic acid bacteria that normally live in the human digestive tract. This bacterium is known to produce secondary metabolite compounds, namely bacteriolysin, which has inhibitory activity against pathogenic bacteria so that it is useful in the field of health as an antimicrobial and food product. The purpose of this study was to find out the effect of incubation time of *Lactobacillus plantarum* in producing antimicrobial compounds that can inhibit the growth of pathogenic bacteria that destroy foodstuffs namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. In antimicrobial production, data is needed about the optimal time of production of these metabolic compounds and their antimicrobial activity, the growth of *L. plantarum* at incubation time of 24 hours to 72 hours at 37°C. Observations were made of the antibiogram of gram-positive pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and Gram negative *Escherichia coli*. Data obtained from the measurement of clear zone diameter is then analyzed descriptively. The results showed that antimicrobial activity against *S. aureus* bacteria had the greatest inhibition at 72 hours (27 mm), while against *E. coli* bacteria showed equally large inhibitory activity at 48 hours or 72 hours (19 mm) observation time. Chloramphenicol as a positive control had the greatest inhibitory activity at 24 hours observation time for *S. aureus* bacteria (30 mm), while for *E. coli* it occurred at an observation time of 72 hours (28 mm).

Keywords : *Lactobacillus plantarum*, metabolite compounds, antimicrobials, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
DAFTAR ISI	ii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian.....	2
I.4 Manfaat Penelitian.....	2
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bakteri Asam Laktat	4
II.2 Bakteri Asam Laktat.....	6
II.2 Karakteritik dan Sistematika <i>L. plantarum</i>	6
II.3 Plantarisin Sebagai Bakteriosin Asal <i>L. plantarum</i>	8
II.4 <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> Sebagai Bakteri Perusak Bahan Pangan	10
II.5 Pengaruh Bakteriosin Terhadap Bakteri Perusak Bahan Pangan.....	11
BAB III METODE PENELITIAN	14
III.1 Alat dan Bahan	14
III.2 Prosedur Penelitian	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam beberapa tahun terakhir ini sering timbul adanya kasus keracunan pada makanan yang disebabkan oleh penambahan bahan kimia pada bahan makanan dengan tujuan sebagai pengawet ataupun penambah cita rasa. Seringkali ditemukan bahwa penggunaan pengawetan kimia ternyata melebihi dosis dari yang ditetapkan dan disinyalir bahwa paparan ke manusia yang terjadi secara kontinyu dapat berpengaruh terhadap kesehatan, termasuk memicu penyakit kanker pada manusia (Yang *et al*, 2014).

Saat ini telah banyak upaya dilakukan untuk mengatasi kerusakan pada bahan pangan yang lebih aman serta tidak menimbulkan efek samping pada kesehatan manusia. Cara yang paling aman digunakan adalah menggunakan pengawet yang berasal dari bahan biologis. Senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai pengawet bisa diperoleh dari senyawa metabolik yang diproduksi oleh mikroorganisme yang berperan sebagai probiotik dan aman bagi manusia.

Sebagai salah satu alternatif dalam mengatasi pembusukan atau kerusakan pada bahan pangan, penggunaan bakteri probiotik dari kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) dikenal memiliki potensi untuk memproduksi senyawa antimikroba, eksopolisakarida, dan senyawa penghambat seperti bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Trang *et al*, 2019). Hal inilah yang menyebabkan BAL penghasil bakteriosin dapat digunakan sebagai pengawet alami guna memperpanjang umur simpan dari suatu produk makanan (Gautam & Sharma,

2009; Yusuf, 2013). Meskipun begitu, diketahui bahwa tidak semua bakteri asam laktat mampu menghasilkan bakteriosin (Ashraf & Shah, 2011).

Senyawa-senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* dapat berupa asam laktat, hidrogen peroksida (H₂O₂), diasetil, karbon dioksida (CO₂) dan bakteriosin (Barefoot & Nettless, 1993). *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri asam laktat probiotik yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan manusia. Diketahui bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (James *et al*, 1992; Daeschel, 1993).

Berdasarkan pemaparan diatas diketahui bahwa penambahan bakteriosin dapat menjadi agen biopreservatif sebagai solusi untuk permasalahan kerusakan bahan pangan. Bakteriosin diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen serta pembusuk bahan pangan, sehingga penelitian tentang “Optimasi Aktivitas Bakteriosin Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum* Berdasarkan Uji Variasi Waktu Inkubasi Secara In Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” ini sangat perlu dan penting untuk dilaksanakan guna mengetahui waktu terbaik yang dapat meningkatkan fungsi antimikrobanya.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah kemampuan bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* perusak bahan makanan serta kapan waktu optimasi kultur dalam meningkatkan aktivitasnya.

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* perusak bahan makanan serta waktu optimasi kultur dalam meningkatkan aktivitasnya.

I.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen perusak bahan makanan, khususnya mengenai waktu optimum yang dapat meningkatkan aktivitasnya.

I.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas MIPA Unhas. Adapun sampel didapatkan dari bahan stok milik laboratorium.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bakteriosin dan antimikroba

Mikroba adalah makhluk hidup uniseluler (prokariot) yang memiliki sistem pengaturan tubuh atau sintesis proteinnya lebih sederhana dibandingkan makhluk hidup multi seluler (Fifendy, 2017). Sel prokariot DNA terkonsentrasi di wilayah yang tidak diselubungi membrane (nucleoid), tidak memiliki nukleus sejati, dan yang termasuk dalam prokariot hanya bakteri dan arkea (Campbel dan Reece, 2008). Bakteri tidak memiliki siklus seksual, bentuk reproduksi pada bakteri adaah dengan cara membelah. Reproduksi bakteri bersifat klonal artinya setiap sel yang dihasilkan dalam pembelahan sel adalah Salinan identic dari sel asli (Mason, 2014).

Bakteriosin adalah komponen yang disintesis secara ribosomal, dihasilkan oleh bakteri dengan tujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain. Bakteriosin bekerja dengan cara sintesis bakteriosin terjadi di ribosom, sel inang tdk tidak terpengaruh oleh bakteriosin, bakteriosin hanya mampu melawan bakteri yang berkerabat dekat karena daya hambatnya terbatas (Rahayu, 2021).

Bakteriosin dapat di klasifikasikan menjadi bakteriosin kelas I disebut lantibiotik, berupa peptide kecil berukuran >5 kDa, mengandung asam aminoalami yaitu lanthionin termasuk didalamnya adalah nisin. Bakteriosin kelas II adalah bakteriosin yang tidak termasuk dalam kelompok lantibiotik, berupa protein kecil berukuran >10 kDa, tahan panas dan memiliki spektrum aktivitas sempit (Kusnadi, 2018).

Antimikroba adalah penghambatan atau yang dapat mematikan mikroorganisme dengan cara kimiawi maupun biologis (Hafsan, 2014). Menurut

Irianto, 2006 penghambatan atau mematikan mikroorganismenya dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu sebagai berikut:

1. Sterilisasi adalah pembasmian mikroorganismenya yang bersifat patogen dengan menggunakan kalor/suhu
2. Disinfeksi adalah mematikan atau menyingkirkan mikroorganismenya yang dapat menyebabkan infeksi
3. Disinfektan adalah bahan yang digunakan untuk melaksanakan disinfeksi.
4. Antiseptika pada umumnya dimaksudkan bahan-bahan yang mematikan atau menghambat mikroorganismenya.
5. Bakteriostatika adalah menghambat multiplikasi pada mikroorganismenya, Ketika penghambat itu telah hilang maka multiplikasi itu dilanjutkan
6. Bakteriosida adalah setiap zat yang mampu mematikan mikroorganismenya.
7. Bakterin adalah vaksin yang dibuat dari bakteri yang mati dan dapat menimbulkan kekebalan pada tubuh terhadap penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri jenis itu.
8. Bakteriosilin adalah antibody yang terbentuk dalam darah.
9. Bakteriolisis adalah pembasmian dan pelarutan bacterium
10. Bakteriostasis pencegahan atau penghentian pertumbuhan bakteri.
11. Bakteriostat adalah pencegahan atau penghentian pertumbuhan bakteri
12. Bakteriitik sifat atau karakter yang ditimbulkan oleh bakteri.
13. Bacteriuria adalah terdapatnya bakteri dalam urine.
14. Septik berkecenderungan dengan kondisi sepsis
15. Septikemia adalah persisten multiplikasi bakteri hidup didalam darah
16. Sepsis adalah status toksik yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganismenya yang merusak setelah berkontak dengan jaringan yang menghasilkan nanah.

17. Asepsis adalah keadaan tidak adanya mikroorganisme dalam jaringan hidup atau dengan kata lain tidak ada sepsis (pembusukan).

Antimikroba bekerja dengan cara menghambat metabolisme pada sel, menghambat sintesis dinding sel, merusak keutuhan membrane sel, menghambat sintesis protein, menghambat dan merusak sintesis asam nukleat (Manuaba dan Abdinegari, 2004). Penghambatan sintesis protein dapat menyebabkan hilangnya sinyal antar sel, proses konjugasi dan proliferasi pada mikroorganisme diakibatkan rusaknya membrane pada sel (Santoso dan Santri, 2016).

II.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) umumnya dikenal sebagai mikroba GRAS (*Generally Recognized as Safe*) sehingga aman untuk dipergunakan serta berperan penting pada pengawetan dan fermentasi bahan makanan/pakan (Yang *et al*, 2012). Yang *et al*, (2012) dalam Sulistiani (2017) juga mengatakan bahwa sejumlah senyawa oleh BAL yang memperpanjang masa simpan bahan makanan yakni asam laktat, hidrogen peroksida (H₂O₂), Karbon dioksida (CO₂), diasetil, asetaldehid, reuterin, bakteriosin dan lainnya. Menurut Daeschel (1989) dan Puspadewi (2011), efek pengawetan oleh BAL utamanya dikarenakan produksi asam laktatnya yang mampu menurunkan pH substrat sebesar 1,5-2%. Terdapat 12 genus BAL yang telah diidentifikasi yakni *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella* (Sulistiani, 2017; Jay, 1992).

II.3 Karakteristik dan Sistematika *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum tergolong sebagai Bakteri Asam Laktat (BAL) yakni kelompok bakteri yang membentuk asam laktat sebagai hasil metabolisme gula, termasuk sebagai bakteri asam laktat homofermentatif dengan temperatur optimal

lebih rendah dari 37°C, berbentuk batang dengan ukuran 0,9 - 1,2 hingga 1,0 - 8,0 µm, berbentuk tunggal ataupun berpasangan dalam rantai yang pendek. Koloni *L. plantarum* dalam media agar berukuran 2-3 mm, berwarna putih opaque, dan convex (Fraizer & Dennis, 1998; Todorov & Franco, 2010).

Kedudukan taksonomi *L. plantarum* adalah (Hoover & Steenson, 1993) :

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Famili : Lactobacillaceae
Genus : *Lactobacillus*
Species : *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum merupakan bakteri Gram positif yang sebagian besar dapat ditemukan pada susu, daging, sayuran fermentasi, serta saluran pencernaan manusia (Hidayatulloh *et al*, 2019). Menurut Puspawati *et al*, (2011), *L. plantarum* dapat hidup dalam kondisi anaerobik fakultatif yang berarti bahwa bakteri tersebut dapat tumbuh baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Dalam keadaan aerob, *L. plantarum* dapat mengonversi oksigen menjadi peroksida. Adapun dalam keadaan anaerob, *L. plantarum* mampu melakukan fermentasi dengan mengubah gula menjadi asam laktat atau alkohol dalam kondisi heterofermentatif. *L. plantarum* juga mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat serta toleran terhadap asam.

Berdasarkan penelitian oleh Corsetti *et al*, (1998); Ito *et al*, (2003); dan Ogunbanwo *et al*, (2003), aktivitas antimikroba dari *Lactobacillus* utamanya disebabkan oleh produksi asam laktat, asetat, format, kaproat, propionat, butirat

asam valerat, H₂O₂, serta bakteriosin yakni senyawa protein yang dihasilkan oleh bakteri. Diketahui bahwa *L. plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghambat mikroba patogen pada bahan pangan dengan daerah penghambatan terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya (Fraizer & Dennis, 1998).

II. 4 Plantarisin Sebagai Bakteriosin Asal *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus dikenal sebagai bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan senyawa aktif turunan protein yang disebut bakteriosin. Bakteriosin merupakan metabolit ekstraseluler berupa protein yang disintesis langsung di ribosom serta memiliki efek bakteriostatik maupun bakterisidal terhadap mikroorganisme lain (Jack *et al*, 1995), ada yang berspektrum sempit (menghambat spesies yang sama) dan ada pula yang berspektrum luas (menghambat spesies lain) (Djadouni & Kihal, 2012; Zacharof & Lovitt, 2012). Bakteriosin dapat dihasilkan dari bakteri Gram positif maupun Gram negatif, serta dapat bersifat kationik, anionik, maupun netral (Sunaryanto & Tarwadi, 2015). Bakteriosin juga bersifat termostabil dengan berat molekul rendah serta mempunyai efek terapeutik (Ammor *et al*, 2006).

Beberapa jenis bakteriosin yang telah dikenal saat ini adalah nisin, diplococcin, acidophilin, bulgarican helveticins, laktacins, dan plantaricins (Aly *et al*, 2006). Bakteriosin yang ditemukan pada bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dikenal sebagai plantarisin. Plantarisin merupakan bakteriosin tipe II dimana menurut Cotter (2013), mekanisme bakteriosin tipe II dalam menghambat bakteri patogen yaitu dengan menembus dinding sel kemudian berikatan dengan reseptor *Mannose phosphotransferase (Man PTS)* yang mengganggu permeabilitas membran sel sehingga terbentuknya pori dan menyebabkan nutrisi, ion serta ATP akan keluar dari dalam sel (Jati, 2012; Cotter *et al*, 2013).

Berbagai jenis plantarisin yang dihasilkan oleh *L. plantarum* diantaranya adalah plantarisin (pln) A, B, C, C8, C19, D, F, G, H, HK, N, S, SA6, T, U, UG1, KW30, V, serta Plantarisin 149 dan Plantarisin 154 (Sturme *et al*, 2007; Rojo *et al*, 2008; Diep *et al*, 2009; Saenz, 2009; Trang *et al*, 2019). Sebagai contoh, Plantarisin ST26MS (2,8 kDa) dan Plantarisin ST28MS (5,5 kDa) yang diproduksi oleh *L. plantarum* masing-masing dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif seperti *Acinetobacter*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas*. Plantarisin juga memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap bakteri Gram positif seperti *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus cereus* (Todorov *et al*, 2004).

Dari beberapa jenis plantarisin, plantarisin A merupakan salah satu jenis bakteriosin kelas II yang tahan terhadap panas serta mempunyai fungsi ganda yakni sebagai faktor induksi dalam pengaturan gen dan sebagai peptida antimikroba (Diep *et al*, 2009). Plantarisin A yang telah dideteksi pada spesies *L. plantarum* diantaranya adalah *L. plantarum* ST-III pada sayur kimci (Wang *et al*, 2010) dan *L. plantarum* WCFS1 dari saliva manusia (Kleerebezem *et al*, 2003). Adapun plantarisin F diketahui memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri Gram negatif maupun Gram positif serta stabil pada suhu tinggi dan pH yang rendah sehingga dapat dimanfaatkan untuk keperluan fermentasi. Plantarisin F juga mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab *foodborne disease*, diantaranya adalah *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* (Paynter, 1997).

II. 5 *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Sebagai Bakteri Perusak Bahan Pangan

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu contoh dari bakteri yang tergolong sebagai Gram positif, dimana dinding selnya memiliki struktur yang tebal dan kaku serta tersusun kompak dengan lapisan tunggal. Menurut Pelczar & Chan (2006) dalam Pratiwi (2008), *S. aureus* memiliki kandungan dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal hingga berkisar 50% dari berat kering selnya, fosfat, asam teikoat yang mengandung alkohol (gliserol atau ribitol), serta lipid dengan kandungannya yang terhitung rendah (sekitar 1-4%). Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif terletak di bagian membran luar dan lebih tebal dibandingkan pada bakteri Gram negatif sehingga menyebabkan bakteri Gram positif lebih peka terhadap pemberian senyawa antimikroba (Pelczar & Chan, 2006; Pratiwi, 2008). Hal ini sejalan dengan pernyataan oleh Jawetz (2005) dan Schaffer & Lee (2008) bahwa kepekaan pada bakteri Gram positif dan Gram negatif terhadap zat antibakteri tergantung pada perbedaan struktur dinding selnya.

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu contoh dari bakteri yang tergolong sebagai Gram negatif dengan susunan dinding sel yang walaupun tidak kompak tetapi lebih kompleks bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Menurut Pelczar & Chan (2006) dalam Pratiwi (2008), *E. coli* memiliki kandungan dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang hanya berkisar 10% dari berat kering selnya serta tidak memiliki asam teikoat, tetapi memiliki kandungan lipid yang terhitung tinggi (sekitar 11 - 22%). Struktur dari dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan luar oleh lipopolisakarida (lipid yang dirangkaikan dengan polisakarida), lapisan tengah oleh lipoprotein (lipid yang dirangkaikan dengan protein), dan lapisan dalam oleh peptidoglikan sehingga

senyawa antimikroba menjadi lebih sulit untuk masuk ke dalam sel (Silva *et al*, 2012). Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif terletak di bagian membran periplasma (suatu membran yang terdapat diantara membran plasma (membran dalam) dan membran luar). Lapisan lipopolisakarida yang tebal merupakan bentuk pertahanan bakteri Gram negatif terhadap zat-zat asing, termasuk senyawa antibakteri (Pelczar & Chan, 2006; Pratiwi, 2008).

Sebagai salah satu bakteri dari genus *Staphylococcus*, *S. aureus* merupakan bentuk dari koagulase positif dan bersifat patogen utama bagi manusia, berbeda halnya dengan spesies *Staphylococcus* lainnya yang berbentuk koagulase negatif (misalnya *S. epidermidis*, *S. warneri*, dan *S. hominis*) dan merupakan flora normal manusia yang jarang menyebabkan infeksi (Yusuf *et al*, 2015). Adapun *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri enterik dan anggota flora normal pada usus yang berperan terhadap fungsi dan nutrisi normal. Umumnya *E. coli* tidak akan menyebabkan penyakit kecuali bila berada di lokasi lain dimana flora normal jarang terdapat, utamanya di luar usus yang merupakan tempat normalnya berada. Oleh karena itu, meskipun bakteri *E. coli* secara normal hidup di saluran pencernaan banyak kasus diare yang disebabkan oleh bakteri ini (Yusuf *et al*, 2015).

II. 6 Pengaruh Bakteriosin Terhadap Pertumbuhan Bakteri Perusak Bahan Pangan

Beberapa faktor diketahui memberi pengaruh terhadap efektivitas antibakteri dalam uji secara *in vitro*, yakni populasi bakteri, konsentrasi antibakteri, komposisi media kultur, nilai pH medium, waktu inkubasi, suhu, lingkungan sekitar bakteri, dan jenis bakteri yang diuji (Willey *et al*, 2011).

Menurut Lay (1994), beberapa senyawa antibakteri tidak bekerja dengan cara membunuh, melainkan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Zona bening

merupakan indikator untuk melihat seberapa jauh aktivitas bakteriosin terhadap bakteri patogen yang diujikan, terjadi melalui pembentukan cincin-cincin hambatan pada pertumbuhan bakteri di dalam media padat oleh zat antimikroba. Semakin luas zona bening maka semakin kuat daya hambat suatu antimikroba.

Jati (2012) menyatakan bahwa umumnya bakteriosin bekerja dengan menyerang membran sitoplasma dari sel bakteri target. Molekul bakteriosin yang bermuatan positif akan berinteraksi secara elektrostatik dengan gugus fosfat yang bermuatan negatif pada membran sel target, membuat terbentuknya pori pada membran yang akhirnya menyebabkan sel mengalami lisis.

Pada bakteri Gram positif, mekanisme penghambatan oleh bakteriosin dimulai dengan menempelnya bakteriosin pada sel bakteri lalu membentuk kompleks dengan asam lipotekoat yang terdapat pada dinding sel sehingga mengakibatkan terjadinya destabilisasi pada dinding selnya. Asam lipotekoat merupakan reseptor spesifik dan terkait dengan pengikatan senyawa bakteriosin (Bhunia *et al*, 1991). Degradasi sel bakteri ditandai dengan terbentuknya pori-pori yang pada akhirnya menyebabkan sel akan mengalami lisis atau kematian. Adapun pada bakteri Gram negatif, mekanisme penghambatan oleh bakteriosin terjadi dengan mengganggu lipopolisakarida serta merusak dinding sel sehingga terjadi ketidakseimbangan pada membran sel dan menyebabkan terbentuknya pori yang kemudian menjadi tempat bagi keluarnya nutrisi, ATP serta ion dari dalam sel (Murray *et al*, 1997).

Dalam aplikasinya sebagai pengawet makanan, bakteriosin memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan sistem pengawetan secara kimia antara lain: (1) bakteriosin tidak toksik dan mudah mengalami biodegradasi karena merupakan senyawa protein, (2) tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan, (3) penggunaannya dapat mengurangi

penggunaan bahan kimia pengawet, (4) penggunaannya sangat fleksibel, dapat berupa strain kultur starter unggul yang terseleksi dan mampu menghasilkan senyawa antimikroba (Gautam & Sharma, 2009).