

Pengaruh Lama Pemanasan Bakteriosin dari Isolat Bal PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739

The Effect of Heating Time of Bacteriocin from LAB Isolates PR.6.10.5 and PR.6.15.2 on the Growth Inhibition of Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Escherichia coli ATCC 8739

Sarah Yohana Sihombing, Nyoman Semadi Antara*, Gusti Ayu Lani Triani

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801

Diterima 23 Agustus 2021 / Disetujui 30 Agustus 2021

ABSTRACT

After being heated at 100° Celcius, the bacteriocins from the pickled LAB of tabah bamboo shoots hypothetically predicted to be able to inhibit the growth of pathogenic bacteria, especially S. aureus ATCC 25923 and E. coli ATCC 8739. The LAB isolates thus were heated at a temperature of 100o C for various of 5, 10, 15 minutes heating time and subsequently measured by regression and correlation analysis of its influence towards the inhibition of the growth of S. aureus ATCC 25923 and E. coli ATCC 8739 bacterias. This study shows the variations of heating time at a temperature of 100°C resulted with of inhibition zone's diameter formation (mm), activity values (mm²/ml), and the effects (rdan R²) of these two bacteriocins towards its inhibition on the bacterias.

Keywords: *Lactic acid bacteria (LAB), bacteriocin, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 8739, heating time.*

ABSTRAK

Setelah dipanaskan pada suhu 100° Celcius, bakteriosin dari BAL asinan rebung bambu tabah diasumsikan akan mampu menghambat bakteri patogen khususnya bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 0, 5, 10, dan 15 menit dan diukur dengan analisis regresi serta korelasi terhadap variabel penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Penelitian menunjukkan variasi waktu dalam pemanasan suhu 100°C menghasilkan pembentukan diameter zona hambat (mm), nilai aktivitas (mm²/ml), dan pengaruh (r dan R²) kedua bakteriosin terhadap penghambatan bakteri.

Kata kunci: bakteri asam laktat (BAL), bakteriosin, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739, waktu pemanasan.

*Korespondensi Penulis:

Email: semadi.antara@unud.ac.id

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan makhluk bersel tunggal yang dapat dikategorikan menjadi dua yaitu bakteri yang menguntungkan dan yang merugikan. Bakteri menguntungkan adalah bakteri yang baik bagi tubuh manusia, biasanya juga dibutuhkan dalam bidang pengolahan pangan, industri kecantikan, kesehatan (medis) dan lain sebagainya. Sementara bakteri yang merugikan merupakan bakteri penghasil racun yang kemudian memberikan efek negatif bagi tubuh dan juga lingkungan. Bakteri merugikan sering disebut sebagai bakteri patogen (bakteri perusak) yang dapat diatasi dengan penggunaan antibakteria.

Antibakteria merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menginaktifkan bakteri dengan cara menyerang metabolisme bakteri yang merugikan. Salah satu bakteri yang dapat menjadi antibakteri yaitu bakteri asam laktat (BAL). BAL merupakan salah satu bakteri baik yang menguntungkan bagi tubuh, sehingga dapat juga dimanfaatkan dalam proses pengolahan pangan. BAL yang dimanfaatkan dalam proses fermentasi dapat menghasilkan sejumlah antibakteri antara lain: asam organik, hidrogen peroksida (H_2O_2), dan bakteriosin. Dalam penelitian ini, bakteriosin menarik untuk diteliti lebih lanjut khususnya yang diisolasi dari asinan rebung bambu tabah.

Pada penelitian terkait sebelumnya yang dilakukan oleh Arya Sujana *et al.*, (2020) diketahui bahwa BAL dari asinan rebung bambu tabah menghasilkan bakteriosin sebagai substansi antibakteri penghambat senyawa bakteri lain dengan keistimewaan dapat bertahan pada suhu tinggi. Hasil dari penelitian tersebut mengemukakan bahwa aktivitas bakteriosin dengan kode PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 yang dipanaskan pada suhu 80°C, 100°C dan 121°C serta tanpa pemanasan mampu

menghambat pertumbuhan bakteri indikator *Lactobacillus plantarum* sebesar 567,29 mm²/ml sampai 1017,36 mm²/ml. Suhu pemanasan tersebut merupakan suhu pemanasan yang biasanya digunakan dalam proses pengolahan pangan.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa bakteriosin yang berasal dari asinan rebung bambu tabah memiliki potensi sebagai antibakteri, karena mampu menghambat bakteri indikator *Lactobacillus plantarum* pada suhu tinggi. Pengujian lebih lanjut menarik untuk dilakukan untuk mengetahui apakah bakteriosin dari isolat BAL asinan rebung bambu tabah mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen lain seperti *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Kedua bakteri pada dasarnya merupakan mikroflora alami yang normal terdapat pada organ tubuh manusia (Kudva *et al.*, 1996). Namun, keduanya akan menjadi cemaran atau kontaminasi jika terdapat dalam produk pangan dan berbahaya jika dikonsumsi oleh manusia (Swarbrick, 2004).

Berdasarkan hipotesa sementara, bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Selain itu, diasumsikan juga bahwa penelitian lebih lanjut perlu dilakukan melalui pemanasan bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 pada suhu 100°C selama 5, 10, 15 menit dan tidak dipanaskan untuk memperoleh informasi terkait pengaruh waktu pemanasan terhadap kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739.

Dengan demikian, penelitian akan dilakukan dengan rumusan masalah terkait pembuktian dari kedua hipotesa di atas dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan

PR.6.15.2 yang dipanaskan pada suhu 100°C dan pengaruh waktu pemanasan terhadap kemampuan kedua bakteriosin. Pembahasan permasalahan di atas diharapkan dapat memberi informasi yang berujung pada pemanfaatan bakteriosin tersebut dalam industri pengolahan pangan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan berupa eksperimental, yaitu melihat dan pengaruh lama pemanasan bakteriosin isolat BAL pada suhu 100°C terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri uji yakni bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739.

Terdapat 2 faktor yang akan menjadi acuan pada penelitian ini. Faktor pertama adalah faktor lama pemanasan bakteriosin pada suhu 100°C dengan level waktu 0 (T1), 5 (T2), 10 (T3) dan 15 (T4) menit.

Faktor yang kedua adalah pengaruh pemanasan bakteriosin terhadap kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri uji patogen. Setiap unit percobaan akan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali, guna memvalidasi data yang diperoleh memiliki hasil yang konstan.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat, bahan dan media yang digunakan sesuai dengan tahapan sebagai berikut:

(1) Pembuatan media *MRS Broth* untuk perbanyak BAL dan produksi bakteriosin

MRS Broth ditimbang sebanyak 26,1 gram, dimasukkan ke dalam gelas beker, dilarutkan dengan aquades hingga volume 500 ml. Larutan didistribusikan ke dalam tabung reaksi dengan tiap-tiap tabung reaksi berisi 5 ml, tutup menggunakan kapas. sterilisasi media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

(2) Pembuatan media *Nutrient Agar* untuk media penanaman

Media NA ditimbang sebanyak 14g dalam 500 ml aquades. Media dipanaskan dan dihomogenkan dengan menggunakan hot stirer hingga mendidih, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sehingga didapatkan media NA yang steril. Media NA didistribusikan ke dalam cawan petri, masing-masing ±20 ml dan dibiarkan memadat.

(3) Pembuatan media *Lactose Broth* untuk peremajaan bakteri uji

Sebanyak 3,25g LB dilarutkan ke dalam 500 ml aquades. Larutan kemudian didistribusikan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

(4) Perbanyak isolat BAL

Perbanyak bakteri asam laktat dilakukan dengan menginokulasi BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 masing - masing sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml *MRS Broth steril*, lalu diinkubasi kecepatan 120 rpm dan suhu 37°C selama 24 jam hingga media menjadi keruh. Tuang kultur aktif yang diperoleh ke dalam tabung reaksi berisi media MRSB 20 ml steril, inkubasi kembali, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8500 rpm suhu 4°C selama 25 menit. Supernatan kemudian dibuang dan endapan dipipet sebanyak 250 µl yang kemudian diinokulasi ke media MRSB 5 ml. Inkubasi kembali dengan *incubator shaker* kecepatan 120 rpm dan suhu 37°C selama 24 jam. Kultur aktif BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 yang dihasilkan siap digunakan untuk produksi bakteriosin dan pengujian pengaruh lama pemanasan bakteriosin pada suhu 100°C.

(5) Peremajaan bakteri uji untuk pengujian daya hambat bakteriosin kepada bakteri patogen

Setiap kultur stok *S. aureus* ATCC

25923 dan *E. coli* ATCC 8739 dari biakan murninya diambil sebanyak 100 μ L, inokulasi pada media LB 5 ml, lalu inkubasikan dengan dengan kecepatan 120 rpm dan suhu 37°C selama 24 jam hingga media menjadi keruh. Encerkan kultur aktif yang diperoleh dengan penambahan NaCl 9% hingga mencapai hasil pembacaan sama dengan McFarland.

(6) Produksi Baktriosin dan Pemanasan Bakteriosin

Inkubasi isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 selama 24 jam, uji ketahanannya pada suhu 100°C dengan variasi lama waktu pemanasan yaitu selama 0, 5, 10 dan 15 menit kemudian diamkan hingga mencapai suhu ruang. Distribusikan isolat ke dalam tabung *sentifuge* yang dilakukan secara aseptis di dalam laminar air flow, lalu dinginkan dengan bantuan es batu yang telah dihaluskan sebelumnya. Isolat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8500 rpm, suhu 4°C selama 25 menit. Distribusikan *cell free supernatant* yang dihasilkan ke dalam tabung reaksi steril, tambahkan NaOH 1 N steril hingga pH netral mencapai 6,8 dan siap diuji terhadap bakteri patogen.

(7) Uji Daya Hambat Bakteriosin pada Bakteri Uji

Uji secara *in vitro* dengan metode difusi agar dengan *paperdisk oxid*. Suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 dengan pengolesan secara merata

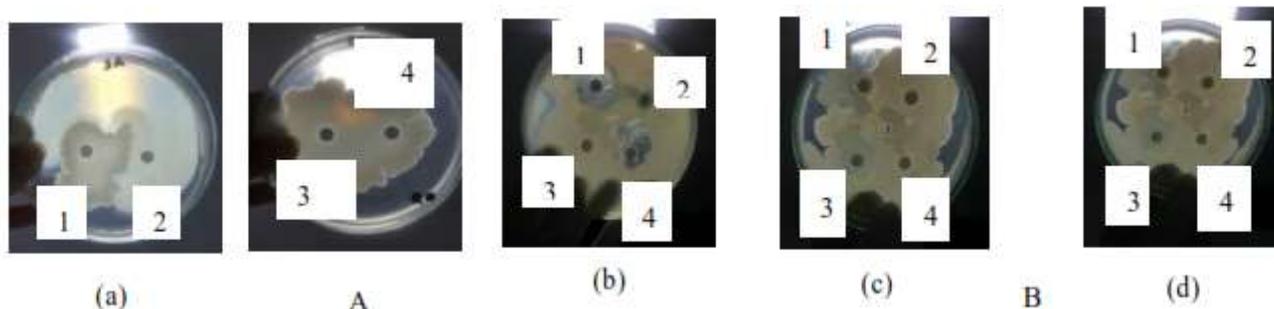
sebanyak 20 μ L pada permukaan medium NA yang telah disterilkan pada cawan petri dan memadat dengan menggunakan batang bengkok. Teteskan 50 μ L isolat bakteriosin dari BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 pada kertas cakram, tempelkan pada permukaan medium NA yang diolesi suspensi bakteri, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24. Ukur diameter bakteri dan zona hambat yang timbul di sekitar kertas saring. Gunakan aquades untuk kontrol negatif dan antibiotik *kloramphenicol* untuk kontrol positif. Aktivitas daya hambat isolat tersebut dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas saring.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biondustri dan Ligkungan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Rekayasa dan Pengendalian Mutu dan Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada bulan April hingga Juni 2021.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Zona Hambat yang Terbentuk

Daya hambat bakteriosin isolat BAL asinan rebung bambu tabah kode PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar kertas saring seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. A. Hasil uji daya hambat bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5(a) dan PR.6.15.2(b) dengan lama pemanasan 0 menit (1), 5 menit (2), 10 menit (3), dan 15 menit (4) terhadap *S. aureus* ATCC 25923, B. Hasil uji daya hambat bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5(c) dan

PR.6.15.2(d) dengan lama pemanasan 0 menit (1), 5 menit (2), 10 menit (3), dan 15 menit (4) terhadap *E. coli* ATCC 8739.

Pada Gambar 1, dapat dilihat bahwa bakteriosin yang dihasilkan dari isolat BAL asinan rebung bambu tabah mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739. Dibuktikan dari terbentuknya zona hamba pada media NA yang diinokulasidengan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739. Suatu isolat BAL dapat dikatakan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain apabila pada saat penguji, zona hambat atau zona bening yang dihasilkan mencapai diameter lebih besar atau sama dengan 1 mm (Hariani, 2013).

Menurut Susanto *et.al.*, (2012) apabila diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 5mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikansedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari bakteriosin isolat BAL asinan rebung bambu tabah kode PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 yang dipanaskan pada suhu 100°C selama 0, 5, 10 dan 15 menit pada pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 dapat dilihat pada Tabel 1.

Zona hambat yang dihasilkan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari isolat BAL PR.6.10.5 dan BAL PR.6.15.2. Pemanasan yang dilakukan pada sampel juga mempengaruhi aktivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739.

Aktivitas Bakteriosin sebagai Antibakteri

Pada Tabel 1 dapat dilihat zona hambat yang dihasilkan dari pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada suhu 100°C selama 0 dan 5 menit aktivitas penghambatan dikategorikan dalam intensitas lemah, selama 10 menit

dikategorikan dalam intensitas kuat, dan pemanasan selama 15 menit dikategorikan dalam intensitas sedang. Zona hambat dihasilkan pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada suhu 100°C selama 0 menit tidak ditemukan aktivitas penghambatan, pemanasan bakteriosin selama 5 dan 10 menit dikategorikan dalam intensitas sedang dan selama 15 menit dikategorikan dalam intensitas lemah.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 dan PR. 6.15.2 terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739.

Bakteri Uji	Nama Sample	Kode Sample	Lama pemanasan (100°C)/menit	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	PR.6.10.5	I ₁ T ₁ /a ₁	0	3,67
		I ₁ T ₂ /a ₂	5	5,00
		I ₁ T ₃ /a ₃	10	11,50
		I ₁ T ₄ /a ₄	15	8,67
	PR.6.15.2	I ₁ T ₁ /a ₁	0	0,48
		I ₁ T ₂ /a ₂	5	8,17
		I ₁ T ₃ /a ₃	10	9,00
		I ₁ T ₄ /a ₄	15	4,00
<i>E. coli</i> ATCC 8739	PR.6.10.5	I ₁ T ₁ /a ₁	0	3,00
		I ₁ T ₂ /a ₂	5	6,50
		I ₁ T ₃ /a ₃	10	8,17
		I ₁ T ₄ /a ₄	15	4,00
	PR.6.15.2	I ₁ T ₁ /a ₁	0	9,00
		I ₁ T ₂ /a ₂	5	9,00
		I ₁ T ₃ /a ₃	10	7,00
		I ₁ T ₄ /a ₄	15	0,48
Kontrol + (Klorafenikol)			-	65,00
Kontrol - (Aquadest)			-	-

Sumber: data diolah (2021)

Zona hambat yang dihasilkan dari pemanasan bakteriosin isolat BALPR.6.10.5 terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739 pada suhu 100°C selama 0 ATCC 8739, aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri patogen terbesar ditunjukkan oleh bakteriosin isolat BALPR.6.15.2 yang tidak dipanaskan dan yang menit aktivitas penghambatan: intensitas lemah, selama 5&10 menit:

intensitas sedang dan pemanasan bakteriosin selama 15 menit: intensitas lemah. Pada pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 suhu 100°C terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739 pada suhu 100°C selama 0, 5

&10 menit: aktivitas penghambatan dengan intensitas sedang. Pemanasan bakteriosin selama 15 menit tidak ditemukan adanya penghambatan.

Tabel 2. Nilai aktivitas bakteriosin (AU) isolat BAL PR.6.10.5 dan PR. 6.15.2 terhadap dayahambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739

Bakteri Uji	Nama Sample	Kode Sample	Lama pemanasan (100°C)/menit	Rata- Rata Diameter Zona Bening (mm)	Luas Zona Bening(Lz) (mm ²)	Luas Kertas Cakram (mm ²)	Volume Sample (ml)	Nilai Aktivitas bakteriosin (AU) (mm ² /ml)
		I1T1/a1	0	3,67	2,88	0,47	0,05	48,15
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	PR.6.10.5	I1T2/a2	5	5,00	3,93	0,47	0,05	69,08
		I1T3/a3	10	11,50	9,03	0,47	0,05	171,13
		I1T4/a4	15	8,67	6,80	0,47	0,05	126,65
		I1T1/a1	0	0,00	0,00	0,47	0,05	0,18
	PR.6.15.2	I1T2/a2	5	8,17	6,41	0,47	0,05	118,85
		I1T3/a3	10	9,00	7,07	0,47	0,05	131,88
		I1T4/a4	15	4,00	3,14	0,47	0,05	53,38
		I1T1/a1	0	3,00	2,36	0,47	0,05	37,68
<i>E. coli</i> ATCC8739	PR.6.10.5	I1T2/a2	5	6,50	5,10	0,47	0,05	92,63
		I1T3/a3	10	8,17	6,41	0,47	0,05	118,85
		I1T4/a4	15	4,00	3,14	0,47	0,05	53,38
		I1T1/a1	0	9,00	7,07	0,47	0,05	131,88
	PR.6.15.2	I1T2/a2	5	9,00	7,07	0,47	0,05	131,88
		I1T3/a3	10	7,00	5,50	0,47	0,05	100,48
		I1T4/a4	15	0,00	0,00	0,47	0,05	0,18
		I1T1/a1	0	9,00	7,07	0,47	0,05	131,88

Sumber: data diolah (2021)

Zona hambat terbesar yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* ATCC 25923 ditunjukkan oleh bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 yang dipanaskan di suhu 100°C selama 10 menit yakni sebesar 11,50 mm. Pada uji daya hambat pertumbuhan bakteri patogen *E. Coli* dipanaskan selama 5 menit berdiameter 9,00 mm.

Perhitungan Aktivitas Hambat Bakteriosin

Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang dilakukan bakteriosin terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739. Nilai aktivitas bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 dan

PR.6.15.2 dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2, nilai aktivitas bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 yang diujikan pada bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 yang tidak dipanaskan menunjukkan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 48,15 mm²/ml kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit mengalami kenaikan nilai aktivitas bakteriosin (AU) sebesar 20.93% menjadi 69,08 mm²/ml, kemudian mengalami kenaikan kembali pada pemanasan suhu 100°C selama 10 menit sebesar 102,05% menjadi 171,13 mm²/ml. Pada pemanasan dengan lama waktu 15 menit, nilai aktivitas bakteriosin mengalami penurunan sebesar 44.48% menjadi 126,65 mm²/ml.

Nilai aktivitas bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 yang diujikan pada bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 yang tidak dipanaskan menunjukkan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 0,18 mm²/ml kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit mengalami kenaikan nilai aktivitas bakteriosin (AU) sebesar 118,67% menjadi 118,65 mm²/ml, kemudian mengalami kenaikan kembali pada pemanasan suhu 100°C selama 10 menit sebesar 13,21% menjadi 131,88 mm²/ml. Pada pemanasan dengan lama waktu 15 menit, nilai aktivitas bakteriosin mengalami penurunan sebesar 78,50% menjadi 53,38 mm²/ml. Suwayvia (2017) juga melaporkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan *L. plantarum* FNCC 0020 memiliki sifat stabil terhadap pemanasan hingga suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan Villani *et al.* (2001) melaporkan bahwa aktivitas antimikroba *Lactococcus garvieae* L-1 benar-benar hilang setelah pemanasan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pada pengujian bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 yang diujikan pada bakteri uji *E. coli* ATCC 8739 yang tidak dipanaskan menunjukkan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 37,68 mm²/ml. Bakteriosin kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit mengalami kenaikan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 54,95% menjadi 92,63 mm²/ml, kemudian pada pemanasan selama 10 menit nilai aktivitas bakteriosin kembali mengalami kenaikan sebesar 26,22% menjadi 118,85 mm²/ml. Pemanasan bakteriosin selama 15 menit menunjukkan penurunan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 65,47% menjadi 53,38 mm²/ml.

Pada pengujian bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 yang diuji pada bakteri uji *E. coli* ATCC 8739 yang tidak dipanaskan menunjukkan nilai aktivitas bakteriosin sebesar 131,88 mm²/ml, kemudian bakteriosin dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit dan tidak menunjukkan adanya perubahan nilai aktivitas bakteriosin karena

tetap menunjukkan nilai AU sebesar

131,88 mm²/ml, pemanasan selama 10 menit nilai aktivitas bakteriosin mengalami penurunan sebesar 31,40% menjadi 100,48 mm²/ml dan kembali mengalami penurunan pada pemanasan selama 15 menit sebesar 100,30% menjadi 0,18 mm²/ml.

Sel kebanyakan bakteri akan mengalami kematian jika dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 60-70°C dengan panas lembab. Kebanyakan spora bakteri hanya akan terbunuh pada suhu yang dipertahankan diatas 100°C selama jangka waktu yang lama (Pelczar, 2012). Panas dapat mengganggu ikatan protein dalam bakteri, namun tidak merubah ikatan kovalennya. Hal ini karena dengan meningkatnya suhu akan membuat energi kinetik molekul bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mengacaukan ikatan-ikatan hidrogen.

Kenaikan suhu yang dialami, akan membuat perubahan entalpi sistem naik. Selain itu bentuk protein yang terdenaturasi dan tidak teratur juga menjadi bukti bahwa entropi akan bertambah. Pemanasan juga dapat mengakibatkan kemampuan protein untuk mengikat air mengalami penurunan dan dapat menyebabkan koagulasi protein (Kumalasari *et al.*, 2012).

Hasil penelitian ini menunjukan bahwa bakteriosin yang dipanaskan lebih lama menunjukkan nilai aktivitas bakteriosin yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dibandingkan dengan bakteriosin yang tidak dipanaskan. Pemanasan pada suhu 100°C selama 5-10 menit menunjukkan rata-rata nilai aktivitas bakteriosin lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dipanaskan atau yang dipanaskan selama 15 menit. Winarwi (2006) menyatakan suhu yang diberikan dapat mempengaruhi mikroorganisme dalam dua cara yang berlawanan yaitu: 1) Apabila suhu naik, kecepatan mikroorganisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya, apabila

suhu turun, kecepatan metabolisme juga turun dan pertumbuhan diperlambat. 2) Apabila suhu naik atau turun, tingkat pertumbuhan mungkin terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan sel-sel dapat mati. Sel bakteri kebanyakan akan dimatikan dalam waktu 5-10 menit pada suhu 60-70°C dengan panas lembab (Pelczar, 2012).

Hal tersebut kemungkinan menjadi penyebab utama bakteriosin yang dipanaskan pada suhu 100°C selama 5-15 menit justru memberikan efek penghambatan yang lebih tinggi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 dibandingkan dengan bakteriosin yang tidak dipanaskan.

Kusmarwati (2014) menjelaskan bahwa masih adanya aktivitas antibakteri oleh bakteriosin ketika terjadinya perlakuan pemanasan diduga karena bakteriosin merupakan peptida pendek yang stabil terhadap panas. Perubahan suhu dan lama pemanasan dapat mengurangi aktivitas biokimia protein (Poedjiadi, 2006). Selain itu, karena adanya asam-asam amino tertentu pada bakteriosin tersebut yang mampu mempertahankan struktur bakteriosin dari pengaruh panas. Najim (2012) menyebutkan bahwa stabilitas terhadap panas dapat dihubungkan dengan formasi struktur globular yang kecil dan menyebabkan kuatnya daerah hidrofobik, kestabilan ikatan silang dan kandungan sistein yang tinggi. Kestabilan terhadap pemanasan ini merupakan suatu keuntungan dan merupakan parameter yang sangat penting jika bakteriosin akan diaplikasikan sebagai pengawet makanan sebab prosedur-prosedur pemrosesan makanan banyak melibatkan pemanasan (Vuyst, 1994; Suwayvia, 2017). Dundar (2006) menyatakan bahwa resistensi terhadap panas merupakan karakteristik umum untuk berbagai jenis bakteriosin yang diproduksi oleh BAL.

Pengaruh Lama Pemanasan Bakteriosin dengan Nilai Aktivitas Bakteriosin

Hasil penelitian laboratorium

menunjukkan bahwa penghambatan yang dilakukan oleh bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 yang dipanaskan pada suhu 100°C dengan lama pemanasan 5, 10 dan 15 menit serta tidak dipanaskan baik terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 maupun *E. coli* ATCC 8739 menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Hasil dari perhitungan regresi dan korelasi antara lama pemanasan (x) dengan nilai aktivitas bakteriosin (y) diperoleh hasil seperti pada Gambar 3.

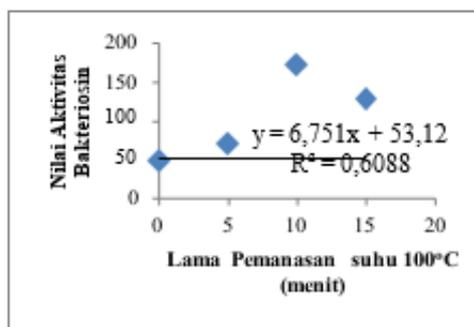
Pada Gambar 3(a) menunjukkan pengaruh lama pemanasan bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 terhadap nilai aktivitas bakteriosin dalam menghambat bakteri *S. aureus* ATCC 25923 menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,7803 dapat diartikan bahwa pengaruh lama pemanasan bakteriosin dengan nilai aktivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 memiliki pengaruh yang kuat.

Nilai koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0,6088 yang berarti 60,88 % nilai aktivitas bakteriosin diperoleh karena adanya variasi perlakuan pemanasan, sedangkan 39,12% lainnya berasal dari faktor luar.

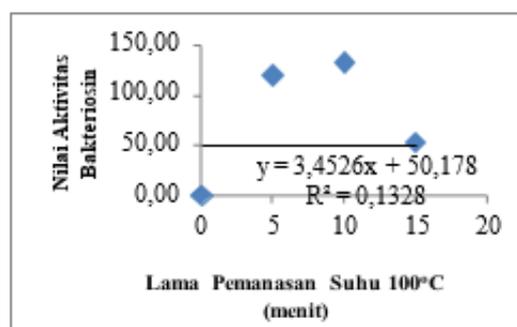
Pada Gambar 3(b) menunjukkan pengaruh lama pemanasan bakteriosin dari isolat BAL PR.6.15.2 terhadap nilai aktivitas bakteriosin untuk menghambat bakteri *S. aureus* ATCC 25923 menghasilkan nilai r sebesar 0,3644 yang berarti pengaruh lama pemanasan bakteriosin isolat PR.6.15.2 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 memiliki pengaruh yang lemah. Nilai R^2 yang diperoleh sebesar 0,1328 yang berarti 13,28%, nilai aktivitas bakteriosin diperoleh karena adanya variasi waktu pemanasan, sedangkan 86,72% lainnya berasal dari faktor luar lama pemanasan. Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang dibentuk oleh isolat BAL terhadap

bakteri uji antara lain interaksi antara kemampuan bakteri asam laktat dalam menghasilkan senyawa aktif atau enzim

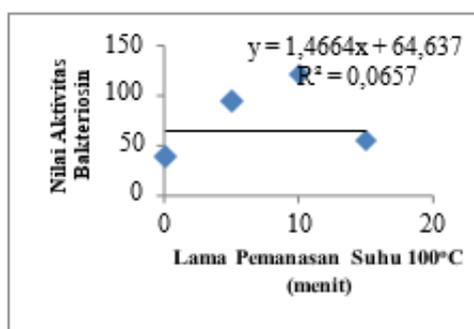
hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah senyawa aktif yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi (Dewi, 2011).



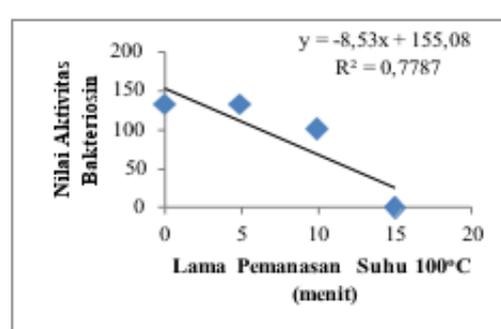
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3. (a) Grafik regresi dan korelasi antara lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 terhadap nilai AU pertumbuhan *S. aureus*, (b) Grafik regresi dan korelasi antara lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 terhadap nilai AU pertumbuhan *S. aureus* b, (c) Grafik regresi dan korelasi antara lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 terhadap nilai AU pertumbuhan *E. coli*, (d) Grafik regresi dan korelasi antara lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.15.2 terhadap nilai AU pertumbuhan *E. coli*.

Pada Gambar 3(c) menunjukkan pengaruh lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 terhadap nilai aktivitas bakteriosin yang dihasilkan dalam menghambat bakteri *E. coli* ATCC 8739 menghasilkan nilai r sebesar 0,2563 yang artinya pengaruh lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 terhadap bakteri *E. coli* ATCC 8739 memiliki pengaruh yang lemah. Nilai R^2 sebesar 0,0657 yang berarti 6,57% nilai aktivitas bakteriosin diperoleh karena adanya variasi waktu pemanasan, sedangkan 93,43% lainnya berasal dari faktor diluar lama pemanasan.

Pada Gambar 3(d) menunjukkan pengaruh lama pemanasan bakteriosin dari isolat BAL PR.6.15.2 terhadap nilai aktivitas bakteriosin dalam menghambat bakteri *E. coli* ATCC 8739 menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,8824 dapat diartikan bahwa pengaruh lama pemanasan bakteriosin dengan nilai aktivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739 memiliki pengaruh yang kuat. Nilai R^2 yang diperoleh sebesar 0,7783 yang berarti 77,83 % nilai aktivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739 diperoleh karena adanya variasi perlakuan pemanasan,

sedangkan 22,17% lainnya berasal dari faktor lain di luar lama pemanasan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Hasil penelitian pada bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 dari asinan rebung bambu tabah ini menunjukkan bahwa bakteriosin tersebut yang dipanaskan pada suhu 100°C mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 ini dibuktikan dengan adanya zona hambat (zona bening) yang terbentuk dalam pengujian. Rata-rata diameter zona hambat bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang terbentuk adalah 3,67-11,50 mm dan terhadap bakteri *E. coli* ATCC 8739 sebesar 3,00-9,00 mm.
2. Hasil analisis di laboratorium menunjukkan bahwa lama pemanasan bakteriosin isolat BAL PR.6.10.5 yang dipanaskan dengan suhu 100°C selama 5, 10, 15 menit, dan tanpa pemanasan berpengaruh kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dengan nilai r sebesar 0,7803 dan R^2 sebesar 60,88%.
3. Lama pemanasan bakteriosin BAL PR.6.15.2 yang dipanaskan dengan suhu 100°C selama 5, 10, 15 menit, dan tanpa pemanasan berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739 dengan nilai r sebesar 0,8824 dan nilai R^2 sebesar 77,83 %. Ini menunjukkan bahwa lama pemanasan bakteriosin terhadap kemampuannya dalam menghambat bakteri *E. coli* ATCC 8739 memiliki pengaruh yang cukup. Dengan demikian maka disarankan untuk

dilakukan uji pengaplikasian bakteriosin tersebut sebagai bahan pengawet makanan, khususnya pada makanan yang cukup rentan terkontaminasi dengan bakteri *S. aureus* dan *E. Coli* dan pengolahannya menggunakan pemanasan dengan suhu mencapai 100°C selama 5-15 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, *Linnaeus*) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dundar, H. 2006. Characterization and Purification of A Bacteriocin Produced by *Leuconostoc mesenteroides* sub sp. *Cremoris*. Thesis. Middle East Technical University, Ankara.
- Hariani, L. 2013. Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* Dj3 dan Aplikasinya Sebagai Pengawet Daging. *Alchemy*: Vol 4(1): 44-45.
- Kleerebezem, M and Hugenholtz, J. 2003. Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 14(2): 232-237.
- Kudva, T., Indira, G., Patrick, H and Hovde, C. J. 1996. *Escherichia coli* O157: H7 in microbial flora of sheep, *Journal of Clinical Microbiology*. 34(2): 43-433
- Kusmarwati, F., Arifah, R., Arief dan S. Haryati. 2014. Eksplorasi bakteriosin dari bakteri asam laktat asal rusip Bangka dan Kalimantan. *JPB Perikanan*. 9(1): 29-40.
- Najim, Hadi, Z. A., Mohammed and Khudir, Z.S. 2012. The Antibacterial Activity of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidophilus* Isolates

- Againts Sensitive Reference Strain *Lactobacillus acidophilus* R0052 and its Stability to Different pH, Heating and Storage Temperatures. Proceeding of The Eleventh Veterinary Scientific Conference, University of Baghdad. p 274–279.
- Pelczar, M. J dan Chan, E. C. S. 2007. Dasar-dasar mikrobiologi 1. UI Press, Jakarta.
- Pelczar, M. J dan Chan, E. C. S. 2012. Dasar-dasar mikrobiologi 2. UI Press, Jakarta.
- Poedjiadi, A. dan Suprayanti, T. 2006. Dasar-dasar Biokimia. UI Press, Jakarta.
- Prescott, L. M., Harley, J. P and Klein, D. A. 2002. Microbiology. McGraw-Hill, USA.
- Santiyasa, I. W. 2016. Analisis Regresi dan Korelasi. Modul Kuliah. Jurusan Ilmu Komputer. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana, Bali.
- Sudjana. 2005. Metode Statistika. Tarsito, Bandung.
- Sujana, I.G.A. 2020. Skrining Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Bakteriosin yang Diisolasi dari Asinan Rebung Bambu Tabah dan Ketahanannya Terhadap Panas. Skripsi. Program Studi Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana, Bali.
- Suryani, M. S. 2020. Virgin Coconut Oil. Bakteri Asam Laktat dan Bakteriosin. Unitomo Press. Universitas Dr. Soetomo, Surabaya.
- Susanto, Sudrajat, D dan Ruga, R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientific*. 11(2):181-90.
- Suwayvia, N. 2017. Produksi Bakteriosin Asal *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 Sebagai Antimikroba dan Stabilitasnya pada Variasi Suhu Pemanasan, Suhu Penyimpanan dan pH. Tesis. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.
- Swarbrick, J. 2004. Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry. Volume 142. Marcel Dekker Inc., New York.
- Usmiati, S., Tri, M. 2007. Seleksi dan Optimasi Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Vesterlund, S. and Ouwehand, A.C. 2004. Antimicrobial Components From Lactic Acid Bacteria. In Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. New York. pp.375-395.
- Vuyst, L. D and E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria. In Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: Microbiology, Genetic and Application. L.D. Vuyst dan E.J. Vandamme (eds.). Blackie Academic & Professional, London. p91–142.
- Winarwi. 2006. Uji Viabilitas Bakteri dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik pada Media Carrier Bekantul. Skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.