

# Aktivitas Invitro Senyawa Antimikroba *Streptococcus lactis*

(INVITRO ACTIVITY ANTIMICROBIAL SUBSTANCE PRODUCED  
BY *STREPTOCOCCUS LACTIS*)

I NYOMAN SUARSANA<sup>1</sup>, MARIA BINTANG<sup>2</sup>,  
IWAN HARJONO UTAMA<sup>1</sup>, DAN NI GUSTI AGUNG AYU SUARTINI<sup>1</sup>

1. Lab. Biokimia-Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Udayana, Jalan Sudirman, Denpasar 80232  
2. Lab. Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Institut Pertanian Bogor

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian menggunakan senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Streptococcus lactis* untuk uji aktivitas invitro senyawa antimikroba terhadap bakteri patogen. Produksi antimikroba ekstraseluler dari *S. lactis* menggunakan metode Bintang (1982) dan pengujian aktivitas antimikroba dengan konsentrasi 0%, 2%, 5%, 10%, 15%, dan 20% menggunakan metode turbidimetrik menurut Yhosimura *et al.*, (1980). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa ekstraseluler dari *S. lactis* dalam bentuk kasar mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*) dan Gram negatif (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) masing masing pada konsentrasi 15 dan 20%.

Kata Kunci: *Streptococcus lactis*, senyawa antimikroba.

*JVet* 2001 2(1): 23- 27

## ABSTRACT

Antimicrobial substance produced by *Streptococcus lactis* was tested its activity against numbers of pathogenic bacteria. Crude extracellular antimicrobe extract (CEAE) from *S. lactis* was produced using the method described by Bintang (1982), while, antimicrobial activity of CEAE at concentration of 0%, 2%, 5%, 10%, 15% and 20% of concentration was tested using the turbidimetric method (Yhosimura *et al.*, 1980). Result indicated that CEAE at 15% and 20% was able to inhibit the growth of Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis*) and Gram-negative bacteria (*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*), respectively.

Key word: *Streptococcus lactis*, antimicrobial substance.

*JVet* 2001 2(1): 23- 27

## PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) mampu memproduksi asam laktat yang merupakan produk utama metabolisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak dikehendaki dalam

makanan. Selain asam laktat, BAL juga mampu memproduksi berbagai substansi antimikroba yang potensial yaitu hidrogen peroksida, diasetil dan asam organik (Daeschel, 1989), dan bakteriosin (Cintas *et al.*, 1995; Oyarzabal, 1998).

Diasetil memiliki sifat antimikroba

hanya dalam konsentrasi tinggi, sedangkan konsentrasi rendah tidak efektif dan bahkan dapat dihancurkan oleh beberapa mikroorganisme (Ray dan Daeschel, 1992). Menurut Hedgecock dan Jones (1950) diasetil akan mempunyai efek antibakteri apabila dipekatkan pada konsentrasi 500-2500 µg/ml. Sedangkan hidrogen peroksida produksinya pada media pepton hanya 8-9 µg/ml. setelah inkubasi dua hari pada suhu 30°C (Price dan Lee, 1970).

Bakteriosin merupakan substansi protein yang sintesisnya dikode oleh plasmid, umumnya mempunyai berat molekul kecil serta memiliki aktivitas sebagai bakterisidal (Eckner, 1992). Senyawa antimikroba atau bakteriosin telah banyak dimanfaatkan sifat antagonistiknya dalam bidang bio-preservatif pangan, terutama kemampuannya dalam menghambat bakteri Gram positif dan atau Gram negatif dan sebagai terapeutik (Jack *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1996 dan Oyarzabal, 1998)

Berbagai spesies BAL telah diketahui memproduksi bakteriosin yaitu *Streptococcus lactis* (Bintang, 1982), *Lactobacillus plantarum* (Gonzalez *et al.*, 1994), *Lactobacillus acidophilus* (Barefoot *et al.*, 1994), *Pediococcus acidilactici* (Cintas, *et al.*, 1995), *Enterococcus faecum* (Aymerich *et al.*, 1996), *Lactococcus lactis* (Ryan *et al.*, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas invitro ekstrak kasar senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus lactis* terhadap beberapa bakteri patogen

## MATERI DAN METODE

### Bahan Penelitian

Penelitian menggunakan *Streptococcus lactis* (bakteri penghasil antimikroba) diperoleh dari Balai Penelitian Ternak, Bogor. Bakteri penguji

adalah *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* dan *Escherichia coli* dari Laboratorium Bakteriologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bahan untuk media penumbuh bakteri penghasil antimikroba seperti susu skim, pepton, ekstrak ragi dari produk Difco dan media cair Todd Hewitt Broth (THB, Difco).

### Produksi Antimikroba ekstraseluler.

Produksi antimikroba ekstraseluler dilakukan menurut cara Bintang (1982) yaitu dengan membiakkan 1% volume kultur murni *S. lactis* umur biakan 24 jam kedalam media susu skim 11% dan diinkubasi pada suhu 30°C selama tujuh hari. Media susu skim 11% terdiri dari susu skim (Difco) 110 g, ekstrak ragi 6 g, pepton 15 g, Na-glutamat 5 g, pH 6,8. Untuk menghilangkan pengaruh asam yang dihasilkan selama fermentasi dinetralkan terlebih dahulu dengan NaOH 0,1 M steril, selanjutnya antimikroba ekstraseluler dipisahkan dengan sentrifugasi 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Fase cair disterilisasi dengan membran filter milifor ukuran pori (Whatman diameter) 0,22 µm. Fase cair yang diperoleh diukur volumenya dan dibubuhi dengan etanol sebanyak dua kali volume fase cair lalu dihomogenkan dan disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan yang sama. Fase cair yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 30°C, sehingga etanol menguap dan fase cair menjadi pekat. Fase cair ini dimasukkan kedalam botol steril dan disimpan pada suhu -20°C sebagai ekstrak antimikroba kasar.

### Pengujian aktivitas antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan menurut cara Yhosimura *et al.*, (1980) dengan beberapa modifikasi.

Antimikroba ekstraseluler dibuat larutan dengan dosis bertingkat 0%, 2%, 5%, 10%, 15%, dan 20% masing-masing 10 ml dalam media cair THB. Untuk pembanding digunakan media THB yang tidak diberi antimikroba kedalam setiap tabung kemudian diinokulasi dengan 100µl biakan bakteri penguji umur biakan 24 jam, dengan serapan optik satu pada panjang gelombang 650 nm segera setelah dibagi diukur serapan optiknya pada T.0 (jam ke 0). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Serapan optik T.0 dan T.18 diukur pada panjang gelombang 650 nm. Aktivitas penghambatan maupun penekanan populasi ditunjukkan dengan mengecilnya nilai serapan optik. Hasil pengukuran yang diperoleh dibandingkan satu dengan yang lain.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas antimikroba ekstraseluler *Streptococcus lactis*

terhadap beberapa bakteri patogen disajikan pada Tabel 1. Senyawa antimikroba memperlihatkan aktivitas penghambatan maupun penekanan populasi yang ditunjukkan dengan mengecilnya nilai serapan optik 18 jam pascainkubasi. Hal ini menunjukkan senyawa antimikroba atau bakteriosin mempunyai aktivitas hambatan pertumbuhan baik terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif

Asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil maupun bakteriosin adalah senyawa organik yang dihasilkan BAL dan bersifat antagonistik. Pada penelitian ini, untuk menguji adanya aktivitas hambatan yang berasal dari bakteriosin dalam supernatan ekstrak kasar, maka efek hambatan pertumbuhan oleh senyawa-senyawa asam dalam supernatan telah dihilangkan terlebih dahulu dengan penambahan NaOH sampai pH supernatan menjadi netral. Sedangkan kemungkinan adanya hidrogen peroksida dan diasetil dalam

Tabel 1. Hasil Pengukuran Serapan Optik Aktivitas Penghambatan oleh Antimikroba Ekstraseluler *S.lactis* terhadap Pertumbuhan Bakteri Penguji

Dosis antimikroba	Mikroba penguji							
	<i>S. typhimurium</i>		<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>E. faecalis</i>	
	T.0	T18	T.0	T18	T.0	T18	T.0	T.18
0%	0,00	0,44	0,00	0,34	0,00	0,25	0,00	0,30
2%	0,00	0,34	0,00	0,30	0,00	0,20	0,00	0,22
5%	0,00	0,17	0,00	0,25	0,00	0,05	0,00	0,03
10%	0,00	0,09	0,00	0,10	0,00	0,03	0,00	0,01
15%	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
20%	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00

Keterangan : T0: Waktu 0 Jam, T18: waktu setelah 18 jam. Data dalam Tabel di atas adalah hasil rata-rata dari dua kali ulangan

kultur cair produksinya dapat ditekan sehingga konsentrasinya sangat kecil karena kultivasi isolat BAL dilakukan pada kondisi oksigen terbatas, selain itu produksi hidrogen peroksida sangat kecil 8-9 µg/ml pada media pepton setelah dua hari inkubasi (Price dan Lee, 1970) dan diasetil akan mempunyai efek antibakteri apabila dipekatkan pada konsentrasi tinggi yaitu 500-2500 µg/ml (Hedgecock dan Jones, 1950)

Oyazabal (1998), menyatakan bahwa BAL dapat menghasilkan substansi bakteriosin yang bersifat antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif dan atau Gram negatif. Pendapat ini telah didukung dengan beberapa penelitian diantaranya bakteriosin Plantaricin C mampu menghambat bakteri *Bacillus subtilis* (Gonzalez *et al.*, 1994), bakteriosin Pediocin L50 memiliki spektrum luas, diantaranya menghambat *E. faecalis* (Cintas *et al.*, 1995). Kedua bakteri ini termasuk bakteri patogenik asal makanan.

Peneliti lain seperti dilaporkan oleh Steven *et al.*, (1991) pada *Salmonella typhimurium* bentuk mutan, mengungkapkan bahwa oli-gosakarida pada struktur LPS bakteri Gram negatif memegang peranan penting dalam sensitivitasnya terhadap nisin. Secara invitro Audisio *et al.*, (1999), melaporkan aksi hambat terhadap bakteri patogenik pada manusia dan unggas yaitu *Salmonella spp.* (*S.galinarum*, *S.pulorum*, *S.enteridis* dan, *S.typhimurium*) didapat dengan cara menggabungkan bakteri asam laktat dengan bakteriosin, sehingga berpeluang untuk dijadikan *avian probiotics*.

Hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhimurium* FNCC 0050, *E. coli* FNCC 0091 dan *Bacillus cereus* oleh bakteriosin juga dilaporkan oleh Djaafar *et al.*, (1995). Hambatan pertumbuhan

ditunjukkan dengan adanya perpanjangan fase *lag* maupun penekanan populasi pasca 12 jam inkubasi setelah ditambah metabolit bakteriosin, masing-masing dari fase *lag* satu jam menjadi enam jam, satu jam menjadi tiga jam, dan dari tiga jam menjadi tujuh jam.

## KESIMPULAN

Ekstrak kasar antimikroba ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Streptococcus lactis* memiliki aktivitas bakterisidal baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Dalam penelitian ini, dosis 15% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis* serta *B. subtilis* dan dosis 20% menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhimurium* serta *E. coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Audisio, M.C., G. Olicer and M.C. Apella. 1999. Antagonistic effect of *Enterococcus faecum* J96 against Human and Poultry pathogenic *Salmonella sp.* J. Food Prot. 62:751-755
- Aymerich, T., H. Holo, L.S. Havarstein, M. Hugas, M. Garriga, and I.F.Nes., 1996. Biochemical and Genetic Characterization of Enterocin A from *Enterococcus faecium*, a New Anti listerial Bacteriocin in the Pediocin Family of Bacteriocins. App. Environ. Microbiol. 62(5): 1676-1682.
- Barefoot, S.F., Y.R. Chen, T.A. Hughes, A.B Bodine, M.Y. Shearer, and M.D. Hughes. 1994. Identification of a Protein that Induces Production of the *Lactobacillus acidiphilus* Bacteriocin Lactacin B. App. Environ. Microbiol. 60(10): 3522-3528.
- Bhunia, A.K., M.C. Johson,, B. Ray, and N. Kalchayanand. 1991.

- Mode of Action of Pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on Sensitive Bacterial Strain. *J. of Appl. Bacteriol.* 70:25-33.
- Bintang, M.L.** 1982. Perbaikan Mutu simpan ikan Pindang dengan pembubuhan bahan antimikroba dari *Str. lactis*. Tesis S2 Pasca sarjana IPB, Bogor
- Cintas, L.M., J.M. Rodriguez, M.F. Fernandez, K. Sletten, I.F.Nes, P.E. Hernandez and H. Holo.** 1995. Isolation and Characterization of Pediocin L50, a New Bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* with a Broad Inhibitory Spectrum. *App. Environ. Microbiol.* 61(7): 2643-2648.
- Daeschel, M.A.** 1989. Antimicrobial substance from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol.* 43:164-167
- Djaafar, T.F. E.S Rahayu, D. Wibowo, dan S. Sudarmadji.** 1995. Substansi antimikroba Bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* subsp. rhamnosus TGR-2 yang diisolasi dari Growol. Seminar Nasional Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia XII, Sanur Bali. 15 Halaman
- Eckner, K.F.** 1992. Bacteriocins and food application. *Dairy Food and Environ. Sanitation.* 12:204-209
- Gonzalez, B., P.Arca, B.Mayo, and J.E.Suarez.** 1994, Detection, Purification, and Partial Characterization of Plantaricin C, a Bacteriocin Produced by a *Lactobacillus plantarum* Strain of Dairy Origin. *App. Environ. Microbiol.* 60(6): 2158-2163.
- Hedgecock, L.W and L.R. Jones.** 1950. Antibacterial activity of diacetyl, in Ray, B. and M. Daeschel eds. *Fod Biopreservatives of Microbial origins.* CRC. Press Tokyo P:1-201
- Jack, R.W., J. Wan, J. Gordon, H. Harmark, B.E. Davidson, A. Hillier, R.E.H. Wettenhall, M.W. Hickey, and M.J. Coventry.** 1996. Characterization of the Chemical and Antimicrobial Properties of Piscicolin 126, a Bacteriocin Produced by *Carnobacterium piscicola* JG126. *App. Environ. Microbiol.* 62(8): 2897-2903.
- Oyarzabal, O.A.** (1998). Bacteriocins to reduce Spoilage and Pathogenic Bacteria in Meat. *World Poultry-Elsevier.* Vol 14. No. 12.
- Price, R.J and J.S. Lee.** 1970. Inhibition of Pseudomonas species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. *J. Milk Food Technol.* 33:13
- Ray and M. Daeschel.** 1992. *Food Biopreservatives of Microbial Origins.* CRC. Press. Tokyo. p:1-201
- Ryan, M.P., W.J. Meaney, R.P Ross, and C. Hill.** 1998. Evaluation of Lacticin 3147 and Teat Containing this Bacteriocin for Inhibiting of mastitis Pathogens. *App. Environ. Microbiol.* 64:2287-2290.
- Steven, K.A., B.W. Sheldon, N.A. Klapes and T.R. Klaenhammer.** 1991. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* and other Gram negatif bacteria spp. *Environ. Microbiol* 57:3613-3615
- Tagg, J.R., A.S. Dajani, and L.W. Wannamaker.** 1976. Bacteriocins of Gram Positif Bacteria. *Bacteriol. Rev.* 1976. 40(3): 722-756
- Williams, R.A.D., P.A. Lambert and P. Singleton.** 1996. *Antimicrobial Drug Action.* Bios Scientific Publisher Ltd. Oxford, U.K. pp:1-146.
- Yhosimura, H., M. Nakamura, T. Koeda, and S. Sato.** 1980. Antibiotic sensitivity of *Salmonella* Isolated from Animal Feed Ingrediens. *Jap. J. of Vet. Sci.* 42(5):595-597.