

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI PEDA DENGAN JENIS IKAN BERBEDA TERHADAP *E. coli* DAN *S. aureus***

*Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolates from Peda with Different Types of Fish against E. coli and S. aureus*

**Mukti Nur Hamidah<sup>1\*</sup>, Laras Rianingsih<sup>1</sup>, dan Romadhon<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah - 50275, Telp/fax: (024) 7474698  
Email : [muktinh@gmail.com](mailto:muktinh@gmail.com)

**ABSTRAK**

Peda adalah produk fermentasi setengah basah berbahan baku ikan dengan penambahan garam. Peda bisa dibuat dari berbagai jenis ikan yang memiliki karakteristik berbeda-beda. Bakteri Asam Laktat yang tumbuh pada peda memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam produk perikanan yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi BAL dari peda dengan jenis ikan berbeda dan mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Metode penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diterapkan yaitu dengan perbedaan bahan baku dengan tiga kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan uji sidik ragam (ANOVA), apabila hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil uji TPC peda ikan Layang  $4,29 \times 10^2$  CFU/g; peda ikan Petek  $1,21 \times 10^4$  CFU/g; dan peda ikan Buntal  $2,57 \times 10^3$  CFU/g. Hasil uji morfologi, uji pewarnaan gram bakteri dan uji katalase yang dihasilkan dari 15 isolat BAL adalah 14 isolat berbentuk bulat, berwarna ungu (positif), katalase negatif, sedangkan satu isolat berbentuk bulat, berwarna merah (negatif), katalase positif. Hasil zona hambat yang dihasilkan dari isolat BAL peda ikan Layang, Petek, dan ikan Buntal terhadap bakteri *E. coli* berkisar  $2,68 \pm 0,23$  mm sampai dengan  $4,35 \pm 0,22$  mm sedangkan *S. aureus*  $2,52 \pm 0,20$  mm sampai dengan  $5,92 \pm 0,43$  mm. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa perbedaan bahan baku pada pembuatan peda tidak berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

**Kata kunci:** Antibakteri, BAL, *E. coli*, Peda, *S. aureus*

**ABSTRACT**

*Peda is an Intermediate Moisture Food (IMF) made from fish with salt addition. Peda can be made from various types of fish that have different characteristics. Lactic Acid Bacteria (LAB) that grow in Peda have the potential to inhibit the growth of pathogenic bacteria E. coli and S. aureus. The aim of this research was to isolate LAB from different types of fish and to find out the antibacterial activity against E. coli and S. aureus. The method of this research used was experimental laboratories by using Completely Randomized Design (CRD). The treatment was the difference of raw material with three repetitions. The data were analyzed using Analyzed of Variance (ANOVA), if the results were significantly different then continued with the Honestly Significance Difference (HSD) test. The results of Total Plate Count (TPC) test on scad Peda was  $4.29 \times 10^2$  CFU/g; ponyfish Peda  $1.21 \times 10^4$  CFU/g; and pufferfish Peda  $2.57 \times 10^3$  CFU/g. The result of morphological test, gram-coloring test and catalase test from 15 LAB isolates were 14 of them were round (coccus), purple (positive), negative-catalase, while the other one was round (coccus), red (negative), positive-catalase. The result of the inhibition zone from scad Peda, ponyfish Peda and pufferfish Peda against E. coli was ranged from  $2.68 \pm 0.23$  mm to  $4.35 \pm 0.22$  mm, meanwhile against S. aureus was ranged from  $2.52 \pm 0.20$  mm to  $5.92 \pm 0.43$  mm. Based on the result of the research, it can be concluded that the difference of raw material has no significant effect on the inhibition zone result against E. coli and S. aureus.*

**Keywords:** Antibacterial, *E. coli*, LAB, Peda, *S. aureus*

## **PENDAHULUAN**

Ikan layang (*Decapterus* spp.) dan ikan petek (*Leiognathus* sp.) merupakan sumberdaya ikan ekonomis dengan ketersediaan yang berkelanjutan setiap tahunnya. Ikan buntal merupakan ikan karang yang cukup banyak diolah meskipun beracun karena memiliki kandungan gizi yang tinggi. Menurut Kementerian Kelautan dan Perikanan (2012), volume produksi ikan layang tahun 2011 meningkat sebesar 54.592 ton yaitu dari 351.216 ton pada tahun 2010 menjadi 405.808 ton pada tahun 2011. Menurut Wibowo *et al.* (2016), ikan buntal masuk dalam jenis ikan tangkap golongan lain. Tangkapan ikan lain lain tersebut sangat tinggi hal ini terbukti pada rekap kuartal I sampai dengan IV tahun 2014 yaitu sejumlah 4.761.287 kg.

Peda adalah salah satu produk perikanan yang berasal dari ikan segar melalui proses fermentasi dengan penambahan garam. Peda banyak diproduksi di Indonesia khususnya di daerah Pantai Utara Jawa. Peda banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia karena memiliki cita rasa yang khas serta harganya terjangkau. Menurut Hutkins (2006), produk fermentasi biasanya mengandung nilai gizi yang lebih tinggi dari bahan asalnya. Selain itu, proses fermentasi dapat membantu dalam mengawetkan makanan dan juga memberikan sifat-sifat tertentu yang dapat menjadi daya tarik bagi konsumen, unik serta dapat meningkatkan nilai ekonomi.

Proses fermentasi produk peda dilakukan oleh bakteri asam laktat melalui fermentasi spontan. Pertumbuhan bakteri asam laktat yang bersifat khas dan merupakan mikroflora dominan dimanfaatkan selama proses fermentasi. Menurut Kusmiati dan Amarila (2002), bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman karena sifatnya tidak toksik. Bakteri asam laktat dikenal sebagai mikroorganisme *Generally Recognized as Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan. BAL dapat berfungsi sebagai pengawet makanan karena bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Menurut Indriati *et al.* (2006), dalam produk fermentasi bakteri asam laktat sering ditemukan sebagai mikroflora dominan yang dapat menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Aktivitas bakteri asam laktat berkaitan dengan adanya produksi asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin.

Bakteri asam laktat berpotensi menghambat bakteri patogen dan pembusuk karena menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, maupun bakteriosin. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang dapat mengkontaminasi produk perikanan. Bakteri patogen tersebut banyak ditemukan dalam produk perikanan terkait masalah sanitasi selama pengolahan yang belum baik. Bakteri patogen merupakan bakteri yang bersifat merugikan dan dapat menyebabkan penyakit. Menurut Ummamie

*et al.* (2017), bakteri yang dapat menjadi penyebab infeksi salah satunya adalah *E. coli*. Bakteri ini mudah menyebar dengan mencemari air dan mengkontaminasi bahan yang bersentuhan dengannya. *E. coli* menyebabkan gangguan pencernaan serta mengganggu sistem kerja dari organ lambung. Bakteri *S. aureus* adalah salah satu mikroba patogen yang dapat menyebabkan *food intoxication*. Selama proses pengolahan biasanya *E. coli* mengkontaminasi alat-alat yang digunakan sedangkan kontaminasi *S. aureus* terjadi melalui pekerja maupun sanitasi yang kurang baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dari peda dengan jenis ikan berbeda dan mengetahui aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peda ikan layang (*Decapterus* spp.), peda ikan petek (*Leiognathus* sp.), dan peda ikan buntal (*Tetradon* sp.). Sampel peda diambil dari UD. Cahaya Rejeki Tegal dengan perbandingan ikan dan garam yang digunakan yaitu 10 : 3. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *glassware*, inkubator, *stomacher*, vortex, dan mikroskop.

### **Prosedur Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahapan. Pengujian yang dilakukan berupa uji kadar garam NaCl, TPC BAL, morfologi sel dan pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji aktivitas antibakteri.

### **Isolasi Bakteri Asam Laktat (Darmayasa, 2008)**

Proses penumbuhan sampel peda dilakukan dengan melakukan pembuatan media agar dan bahan pengencer terlebih dahulu. Media MRS Agar ditambah  $\text{CaCO}_3$  1% dan Na azide 0,01% dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk dilarutkan dengan aquadest kemudian diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer* diatas *hot plate*. Larutan media tersebut kemudian disterilisasi dengan *autoclave*.

Sampel dari masing-masing produk ditimbang sebanyak 10 g. Pengenceran dilakukan dari tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-6}$  pada tabung reaksi dan divortex agar homogen. *Plating* dilakukan mulai dari pengenceran  $10^{-2}$  dengan mengambil 1 ml suspensi contoh dan dimasukkan pada cawan petri steril dengan metode *pour plate*. Proses inkubasi dilakukan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam.

Koloni yang tumbuh dipilih berdasarkan kemampuannya menghasilkan zona bening terbesar dan bentuk koloni berbeda. Koloni yang terpilih tersebut kemudian dimurnikan ke media MRS Agar dengan metode *streak* kuadran dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 1-2 hari. Apabila koloni belum seragam maka perlu dipisahkan kembali dengan dilakukan *streak* lagi, setelah koloni seragam

kemudian dicek keseragaman dan morfologi selnya. Sel yang telah seragam disimpan dalam agar tegak.

#### **Uji Pewarnaan Gram (Nurabiti et al., 2016)**

Peremajaan isolat dalam MRS *Broth* dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji pewarnaan yaitu dengan mengambil biakan bakteri dari stok kemudian diletakkan pada kaca preparat selanjutnya difiksasi diatas api bunsen. Proses pewarnaan gram dilakukan dengan pemberian kristal violet sebanyak 2 tetes dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Langkah selanjutnya yaitu pemberian lugol sebanyak 3 tetes dan didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquadest. Preparat kemudian dilunturkan dengan pemberian larutan alkohol sebanyak 3 tetes selama 20 detik. Preparat kembali dicuci dengan aquades dan diberi pewarna safranin selama 15 detik. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan kembali dengan aquadest. Selanjutnya morfologi sel dapat diamati dengan penambahan minyak imersi dan menggunakan mikroskop. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu dan bakteri negatif ditandai dengan warna merah.

#### **Uji Katalase (Gupte, 1990)**

Uji katalase dilakukan dengan mengambil satu ose koloni dari kultur dan koloni diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi satu tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Jika timbul gelembung-gelembung artinya positif dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung udara.

#### **Uji Antibakteri (Romadhon et al., 2012)**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan melakukan kultur bakteri menggunakan media cair *nutrient broth*. Sebanyak 1 ose bakteri dari media padat dikultur di dalam media cair selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji antibakteri yaitu menuang media *nutrient agar* dalam cawan petri dan dibiarkan menjeda. Inokulasikan bakteri patogen *E.coli* dan *S. aureus* yang telah dikultur dengan metode *spread plate* pada cawan petri sebanyak 50 µl, ratakan dengan gelas L. Isolat bakteri dari peda yang telah tumbuh disajikan dengan metode cakram. Kertas *whatmann* dengan diameter 1 cm dicelupkan pada bakteri uji pada MRS *broth* kemudian diletakkan diatas media agar yang telah berisi bakteri patogen tersebut. Uji dengan metode cakram dilakukan pada masing-masing bakteri patogen *E. coli* dan *S. Aureus*. Kertas *whatmann* setelah diletakkan kemudian cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik untuk dilihat zona hambatnya. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas *whatmann* diamati dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

#### **Rancangan Percobaan**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan tiga jenis ikan yang berbeda yaitu peda ikan layang (L), peda ikan petek (P), dan peda ikan buntal (B). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data pendukung berupa uji kadar garam NaCl menggunakan metode BSN (1991), morfologi sel dan pewarnaan Gram, serta uji katalase.

#### **Analisis Data**

Data penelitian yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila nilai F hitung  $\geq$  F tabel atau  $P < 5\%$  maka terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dan H<sub>1</sub> diterima, dan apabila nilai F hitung  $<$  F tabel maka tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan sehingga hipotesis alternatif (H<sub>1</sub>) ditolak. Uji dilanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Kadar Garam NaCl**

Peda merupakan produk fermentasi yang menggunakan konsentrasi garam tinggi. Pengujian kadar garam dilakukan pada peda layang, petek dan buntal untuk melihat kandungan garam dalam sampel. Hal ini berkaitan dengan besarnya kandungan garam dalam produk maka akan mempengaruhi jenis mikroba yang berperan selama fermentasi. Hasil perhitungan kadar garam NaCl dan TPC BAL disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Kadar Garam (NaCl) dan TPC BAL dari peda ikan layang, petek, dan buntal

Sampel	Kadar Garam NaCl (%)	Total BAL (CFU/g) (log)
Layang	16,23±0,17 <sup>a</sup>	2,63±0,032 <sup>a</sup>
Petek	19,67±0,12 <sup>b</sup>	4,08±0,027 <sup>c</sup>
Buntal	19,65±0,17 <sup>b</sup>	3,41±0,021 <sup>b</sup>

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan  $\pm$  standar deviasi
- Data diikuti dengan tanda huruf kecil berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Ketiga jenis ikan menggunakan konsentrasi garam dan lama waktu penggaraman yang sama selama proses pembuatan peda. Penggaraman basah dilakukan selama 3 hari dengan nilai kadar garam tertinggi berasal dari ikan petek sebesar 19,67±0,12%. Hasil nilai kadar garam dari setiap sampel berbeda hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan bahan baku ikan yang digunakan. Selama proses penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan karena perbedaan

konsentrasi. Efektivitas penggaraman tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti tingkat kesegaran ikan, ukuran ikan maupun ketebalan daging ikan. Ikan petek dibandingkan dengan ikan layang dan buntal memiliki bentuk tubuh paling pipih sehingga mempengaruhi ketebalan dagingnya dan kecepatan penetrasi garam. Menurut Rochima (2005), bahwa proses penggaraman akan berhenti setelah terjadi keseimbangan antara larutan di dalam daging ikan dengan larutan garam di luarnya selama waktu penggaraman tertentu. Selama proses penggaraman akan terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan tergantung dari kemurnian garam yang digunakan. Beberapa faktor penting yang mempengaruhi efektivitas penggaraman adalah konsentrasi garam, suhu penggaraman, ketebalan daging ikan dan tingkat kesegaran ikan.

Peda dapat diolah melalui proses fermentasi dengan penggaraman basah. Perbedaan bahan baku ikan yang digunakan akan mempengaruhi proses penggaraman tersebut. Ikan petek, layang dan buntal memiliki ukuran tubuh, ketebalan daging dan kandungan lemak yang berbeda. Ikan layang yang termasuk dalam ikan berkadar lemak tinggi dapat memperlambat proses penetrasi garam. Hal tersebut dapat dilihat melalui hasil kadar garam NaCl pada ikan layang sebesar  $16,23 \pm 0,17\%$  memiliki nilai terendah dibandingkan dengan peda dari ikan petek ( $19,67 \pm 0,12\%$ ) dan ikan buntal ( $19,65 \pm 0,17$ ). Menurut Adawyah (2007), penggaraman basah menggunakan larutan garam 30-50%. Ikan direndam dalam jangka waktu tertentu tergantung pada ukuran dan tebal ikan. Selain itu, pada ikan yang memiliki kesegaran rendah, proses penetrasi garam berlangsung lebih cepat karena kondisi tubuh ikan relatif lebih lunak, cairan tubuh tidak terikat dengan kuat dan mudah terisap oleh larutan garam yang mempunyai konsentrasi lebih tinggi. Temperatur ikan juga mempengaruhi cepat lambatnya proses penetrasi garam ke dalam tubuh ikan. Ikan layang merupakan ikan berkadar lemak tinggi dan umum digunakan untuk pembuatan peda. Namun, semakin tinggi kadar lemak di dalam tubuh ikan semakin lambat proses penetrasi garam ke dalam tubuh ikan. Mikroba yang berperan selama fermentasi peda adalah mikroba yang berasal dari ikan itu sendiri atau garam yang ditambahkan.

#### **TPC BAL**

Sampel peda Ikan layang, petek dan buntal pada tahap awal dilakukan penanaman pada media MRS Agar dengan metode *pour plate*. Koloni yang tumbuh kemudian dapat dihitung dan diamati untuk memperoleh nilai *Total Plate Count*. Hasil perhitungan Total Bakteri Asam Laktat disajikan pada tabel 1.

Hasil perhitungan total BAL pada tabel 1 didapat nilai TPC terbesar dari peda ikan petek sebesar  $\log 4,08 \pm 0,027$ . Kadar garam yang terdapat pada sampel akan mempengaruhi pertumbuhan

BAL dimana kadar garam NaCl tertinggi juga berasal dari sampel petek sebesar 19,67%. Konsentrasi garam yang tinggi akan mempengaruhi BAL namun disisi lain pola makan ikan juga dapat mempengaruhi keberagaman mikroanya. Ikan petek merupakan ikan herbivora yang memiliki saluran pencernaan lebih panjang dari panjang tubuhnya. Saluran pencernaan ikan merupakan reservoir alami bagi mikroorganisme. Ikan petek sebagai ikan herbivora memiliki keberagaman mikroba lebih tinggi daripada ikan omnivora dan ikan karnivora dalam saluran pencernaannya. Menurut Adawyah (2007), mutu peda sangat dipengaruhi oleh jenis ikan yang digunakan, cara pengolahan, dan cara penyimpanan. Bakteri yang diisolasi dari ikan peda mempunyai sifat pertumbuhan yang mesofilik dengan pH 6-8 dan termasuk ke dalam kelompok bakteri halotoleran sampai dengan bakteri halofilik. Hal ini diperkuat oleh Ummah (2015), saluran pencernaan hewan akuatik memiliki keragaman genetik yang tinggi. Saluran pencernaan ikan dihuni oleh berbagai mikroba berbeda tergantung pada lingkungan dan kebiasaan makan ikan. Pola makan sangat berpengaruh pada aktivitas enzim di saluran pencernaan ikan. Aktivitas enzimatik tersebut erat kaitannya dengan mikroba yang terdapat pada saluran pencernaan ikan. Mikroba mensekresikan enzim yang berperan dalam proses pencernaan pakan di area gastrointestinal, terutama pada ikan yang cenderung bersifat herbivora. Hal ini diperkuat oleh Tjahjo dan Riswanto (2012), jenis ikan yang termasuk herbivora adalah sembilang, belanak, petek, dan lidah. Ikan tersebut mempunyai luas relung yang relatif lebih luas sehingga termasuk kelompok herbivora dengan kemampuan lebih tinggi dalam menyesuaikan fluktuasi makanan alami yang tersedia.

Hasil nilai TPC ikan buntal sebesar  $3,41 \pm 0,021$  CFU/g. Konsentrasi garam pada sampel peda ikan buntal sebesar 19,65%. Nilai kadar garam tinggi akan mempengaruhi hasil log TPC BAL hal tersebut berkaitan dengan pertumbuhan BAL sebagai bakteri halofilik. Sampel ikan buntal memiliki daging yang paling tebal di antara ikan petek dan ikan layang. Tebalnya daging ikan buntal menyebabkan sampel lebih lembab dari dua sampel lainnya. Menurut Adawyah (2007), peda adalah produk fermentasi dengan penambahan garam berbahan baku ikan dan tidak dikeringkan lebih lanjut melainkan dibiarkan setengah basah. Menurut Putra *et al.* (2017), Penambahan garam selama fermentasi peda mengurangi aktivitas air dari matriks makanannya. Kondisi ini menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan mendorong pertumbuhan bakteri gram positif seperti BAL. Oleh karena itu BAL memainkan peran sentral dalam fermentasi ikan bersama dengan penambahan garam. Garam digunakan untuk mengontrol pertumbuhan bakteri yang diinginkan seperti bakteri asam laktat. Hal ini

diperkuat oleh Desniar *et al.* (2009), peningkatan konsentrasi garam dari 30% sampai 50% menyebabkan penurunan log TPC dan peningkatan log total BAL. Hal ini disebabkan oleh sifat garam yang berfungsi untuk menyeleksi mikroba dalam fermentasi, karena bersifat sebagai antimikroba. Hasil yang sama juga terjadi pada fermentasi kecap ikan dimana penurunan log TPC diikuti oleh peningkatan log BAL dari awal fermentasi sampai 4 bulan fermentasi.

Sampel ikan layang menghasilkan nilai TPC paling kecil yaitu sebesar  $2,63 \pm 0,032$  CFU/g. Ikan petek merupakan salah satu ikan karnivora. Ikan karnivora memiliki tingkat keberagaman mikroba lebih rendah dibandingkan ikan herbivora. Hal ini dipengaruhi oleh panjang saluran pencernaannya yang lebih pendek dari panjang tubuhnya. Selain itu, ikan layang termasuk dalam golongan ikan *scromboidae* yang berpotensi tinggi menghasilkan senyawa histamin. Hal ini berkaitan dengan mikroba yang terdapat dalam ikan *scromboidae* yang dapat tumbuh lebih cepat dibandingkan BAL. Menurut Buntin *et al.* (2008), BAL yang teridentifikasi dalam saluran pencernaan dan feses ikan merupakan bagian kecil dari mikrobiota usus ikan. Meskipun bukan populasi dominan pada ikan, BAL adalah bagian mikrobiota asli hewan air. Selain dari saluran pencernaan ikan, BAL (*Carnobacteria*, *Lactobacilli*, *Lactococci*, *Leuconostocs* dan *Pediococci*) ditemukan dari isolasi ikan yang difermentasi. BAL memiliki manfaat sebagai probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan. Bakteri asam laktat mencegah pertumbuhan bakteri patogen dengan adanya produksi asam organik dan senyawa antimikroba. Hal ini diperkuat oleh Ustadi *et al.* (2002), pengolahan ikan secara tradisional umumnya melalui proses fermentasi yang berlangsung secara spontan (tanpa inokulum atau starter bakteri yang dikehendaki), sehingga bakteri pembusuk dan penghasil histamin serta bakteri patogen tumbuh cepat mendahului pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal ini disebabkan populasi awal BAL rendah yaitu hanya sekitar 5% dari total flora bakteri dalam ikan. Hal ini diperkuat oleh Genisa (1998), ciri-ciri ikan pemakan plankton hewani terletak pada perbandingan panjang usus terhadap panjang badan, yaitu kurang dari 100%. Panjang usus ikan layang di perairan Karimun Jawa berkisar rata-rata 23% dari panjang badan.

#### **Isolasi BAL**

Isolasi BAL dilakukan setelah proses uji TPC dengan mengambil koloni bakteri yang memiliki zona bening terbesar sebanyak 6 koloni dari setiap sampel. Koloni tersebut dipindah dengan metode gores ke dalam 18 cawan petri yang berbeda. Koloni hasil dari metode gores tersebut kemudian dimurnikan kembali hingga diperoleh 21 cawan petri. Hasil akhir setelah melalui proses

pemurnian yaitu terpilih 15 isolat BAL dari 21 isolat yang ada. Hasil isolat BAL disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil isolasi BAL dari peda ikan layang, petek dan buntal

Sampel	Isolat	Keterangan
Peda layang	L11a; L11b; L11c; L11d; L11e	5 isolat
Peda petek	P13a; P13b; P13c; P13d; P21c	5 isolat
Peda buntal	B33a; B33d; B34c; B24a; B25b	5 isolat

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui setelah proses isolasi dan pemurnian bakteri didapatkan sebanyak 15 isolat BAL dari sebelumnya sebanyak 21 isolat. Lima belas isolat tersebut dipilih karena menghasilkan zona bening yang besar dan membentuk koloni seragam setelah dilakukannya proses *streak* kuadran sebagai hasil dari proses pemurnian. Menurut Safrida *et al.* (2012), isolasi dan karakterisasi suatu bakteri yaitu morfologi sel (bentuk sel dan susunan sel) merupakan tahap penting untuk identifikasi. Isolat yang memiliki kesamaan-kesamaan morfologi sel menunjukkan bakteri tersebut termasuk genera yang sama.

Isolasi dilakukan pada produk peda karena selama proses fermentasinya memanfaatkan BAL. Hal ini berkaitan dengan keberadaan BAL pada produk peda terutama dalam saluran pencernaan dan kadar garam ketiga sampel. Saluran pencernaan ikan merupakan reservoir alami bagi mikroba dimana bukan hanya BAL yang dapat hidup sehingga diperlukan proses isolasi. Kadar garam ketiga sampel peda sebesar 16,23%; 19, 65%; dan 19,67% akan membatasi jenis mikroba yang hidup. Isolasi bertujuan untuk memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya sehingga diperoleh biakan murni. Isolasi pada peda dilakukan untuk memperoleh biakan murni BAL. Zona bersih menjadi karakterisasi awal dalam memilih BAL. Zona bening akan terbentuk disekitar koloni BAL sebagai hasil dari penetralan  $\text{CaCO}_3$  oleh asam. Melalui proses *streak* akan menghasilkan bentuk koloni yang seragam dimana mayoritas berbentuk bulat dan berwarna putih susu. Menurut Fajri *et al.* (2014), teknik fermentasi peda dengan menggunakan penggaraman konsentrasi 25% tanpa penambahan starter bakteri. Bakteri fermentor berasal dari tubuh ikan itu sendiri dan dari lingkungan tempat fermentasi dilakukan. Bakteri terisolasi dari produk peda adalah *Staphilococcus* sp., bakteri genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus cirvatus*, *L. sake*, *L. murinus*, *L. plantarum*, dan *Streptococcus termophilus*. Hal ini diperkuat oleh Astuti (2016), Bakteri asam laktat yang tumbuh di media diakui oleh terbentuknya zona bersih di

sekitar koloni. Zona bersih di sekitar bakteri asam laktat terbentuk sebagai hasil netralisasi asam yang dihasilkan oleh bakteri oleh  $\text{CaCO}_3$  di media. Zona bersih menjadi karakteristik awal dalam memilih bakteri asam laktat. Morfologi koloni dari 15 bakteri asam laktat yang diperoleh diamati pada media lempeng terkait dengan warna, bentuk, ketinggian, tepi, dan struktur dalam koloni tersebut. Sebagian besar koloni bakteri asam laktat berwarna putih dan bundar. Bentuk sebagian besar tepi koloni utuh dan struktur internalnya buram. Hampir 70% koloni bakteri asam laktat berwarna putih susu. Sebagian besar bentuk koloni berbentuk lingkaran sementara yang lain melengkung atau ikal.

### Morfologi dan Pewarnaan Bakteri

Pengujian morfologi bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram bakteri secara mikroskopis dimana bakteri gram positif akan menghasilkan warna ungu dan sel bakteri gram negatif berwarna merah. Hasil pewarnaan gram bakteri dari 15 isolat BAL disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Morfologi Sel dan Pewarnaan Gram Isolat BAL dari peda Ikan layang, petek, dan buntal

Isolat	Pewarnaan Gram	Katalase	Bentuk Sel
L11a	+	-	Bulat
L11b	+	-	Bulat
L11c	-	+	Bulat
L11d	+	-	Bulat
L11e	+	-	Bulat
B33a	+	-	Bulat
B33d	+	-	Bulat
B34c	+	-	Bulat
B24a	+	-	Bulat
B25b	+	-	Bulat
P13a	+	-	Bulat
P13b	+	-	Bulat
P13c	+	-	Bulat
P13d	+	-	Bulat
P21c	+	-	Bulat

Berdasarkan Tabel 3. diperoleh 14 isolat berupa gram positif dan 1 isolat gram negatif dari total isolat sebanyak 15 isolat. 14 isolat gram positif tersebut menghasilkan warna ungu saat diamati menggunakan mikroskop yang terdiri dari 4 isolat peda layang, 5 isolat peda petek dan 5 isolat peda buntal. Morfologi dari semua isolat yaitu sel bakteri berbentuk bulat. Menurut Khalid (2011), bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang memiliki kesamaan morfologi, metabolisme dan fisiologis. Bakteri asam laktat bersifat non patogen, menghasilkan asam laktat, kelompok jenis bakteri gram positif, berbentuk *coccus* (bulat), atau *bacillus* (batang), tidak membentuk spora, katalase negatif dan oksidase positif, proses fermentasi menghasilkan asam laktat.

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif yang memiliki morfologi sel berbentuk bulat atau batang. Bakteri gram positif setelah dilakukan proses pengecatan Gram akan menghasilkan warna ungu ketika diamati dibawah mikroskop. Hal tersebut dikarenakan dinding sel bakteri gram positif tersusun atas peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan bakteri gram negatif. Peptidoglikan yang lebih tebal mampu mempertahankan zat warna kristal violet meskipun telah diberi larutan pemucat. Menurut Nuryady *et al.* (2013), hasil kelima isolat merupakan gram positif dengan dinding sel berwarna ungu karena mempertahankan warna ungu dari Kristal violet. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya protein ribonukleat kompleks yang dapat mempertahankan warna dasar setelah dilakukan proses pelunturan. Selain itu, terdapat unsur ester fosforik pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari dua lapisan yaitu peptidoglikan yang tebal dan membran dalam. Lapisan peptidoglikan inilah yang dapat mengikat zat warna kristal violet.

Bakteri asam laktat yang termasuk dalam bakteri gram positif dinding selnya hampir tersusun sepenuhnya oleh peptidoglikan. Peptidoglikan yang terbentuk atas ikatan tiga dimensi dari gula amino *N-acetylglucoaminase* dan *N-acetyl mumaric acid* akan mempertahankan Kristal violet karena memiliki kekuatan mekanik dinding sel yang lebih kuat. Kekuatan mekanik dinding sel bakteri gram positif terbentuk karena adanya hubungan silang peptida antara rantai peptidoglikan. Menurut Nester *et al.* (2007), zat penghilang warna mendehidrasi lapisan peptidoglikan yang tebal, dalam keadaan dehidrasi dinding sel bertindak sebagai penghalang permeabilitas sehingga menahan pewarna di dalam sel. Sebaliknya, pelarut aseton-alkohol dengan mudah merusak membran luar bakteri gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan relatif tipis sehingga tidak dapat mempertahankan kompleks pewarna. Hal ini diperkuat oleh Pelczar *et al.* (1968), Selama proses pewarnaan Gram, perlakuan alkohol akan mengekstraksi lipid sehingga meningkatkan permeabilitas dinding sel. Kompleks Kristal violet-iodine (CV-I) dapat terekstraksi sehingga pada bakteri gram negatif kompleks warna tersebut akan luntur. Perbedaan komposisi lapisan dinding sel gram positif menyebabkan dinding sel akan terdehidrasi saat perlakuan alkohol. Ukuran pori-pori sel akan menurun, permeabilitas berkurang, dan kompleks CV-I tidak dapat terekstraksi, sehingga sel akan mempertahankan warna ungu.

### Katalase

Pengujian parameter biokimiawi dilakukan untuk konfirmasi koloni BAL salah satunya yaitu pengujian katalase. Katalase merupakan enzim yang dapat memecah  $\text{H}_2\text{O}_2$  menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{O}_2$ . Uji katalase bertujuan untuk memastikan apakah isolat BAL yang dihasilkan mengandung enzim

katalase atau tidak. BAL pada umumnya tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga termasuk sebagai bakteri dengan katalase negatif. Menurut Suhaeni dan Akhmad (2016), bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida.

Hasil dari uji katalase terhadap 15 isolat BAL pada ikan layang, petek dan buntal adalah 14 isolat bersifat katalase negatif dan 1 isolat berupa katalase positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa 14 isolat BAL tersebut telah memenuhi ciri-ciri BAL yaitu katalase negatif karena tidak dapat menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sehingga tidak menghasilkan gelembung gas. Katalase dalam sel organisme berperan untuk mencegah akumulasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai produk dari proses metabolisme hingga ke tingkat toksik. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jika dapat diuraikan dengan enzim katalase maka akan menghasilkan oksigen yang bersifat toksik. Menurut Garbutt (1997), bakteri asam laktat merupakan bakteri yang negatif menghasilkan enzim katalase. Bakteri asam laktat merupakan bakteri anaerob fakultatif yang menghasilkan enzim peroksidase dimana akan memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi senyawa organik dan H<sub>2</sub>O sehingga tidak menghasilkan gelembung udara.

#### Uji Antibakteri

##### *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat BAL dari sampel peda terhadap bakteri *E. coli* tersaji dalam tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat BAL dari peda ikan layang, petek dan buntal terhadap *E. coli*

No	Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)
1	L11a	4,35±0,22 <sup>e</sup>
2	L11b	3,62±0,24 <sup>bcd</sup>
3	L11d	3,43±0,15 <sup>abcd</sup>
4	L11e	3,73±0,41 <sup>cde</sup>
5	P13a	4,10±0,28 <sup>cde</sup>
6	P13b	3,35±0,18 <sup>abc</sup>
7	P13c	4,18±0,20 <sup>de</sup>
8	P13d	3,67±0,44 <sup>abcd</sup>
9	P21c	4,18±0,33 <sup>de</sup>
10	B33a	3,33±0,13 <sup>abc</sup>
11	B33d	2,7±0,26 <sup>a</sup>
12	B34c	2,68±0,23 <sup>a</sup>
13	B24a	3,33±0,25 <sup>abc</sup>
14	B25b	2,85±0,38 <sup>ab</sup>

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data sudah dikurangi dengan diameter cakram yaitu 5 mm
- Data diikuti dengan tanda huruf kecil berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Struktur dinding sel bakteri negatif *E. coli* mempengaruhi hasil zona hambat. Struktur dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari lipopolisakarida. Dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dari dinding sel bakteri gram positif dengan beberapa ikatan silang peptida. Bagian luar dari lapisan peptidoglikan tersusun atas lapisan lipoprotein, fosfolipid, dan polimer yang unik untuk dinding sel gram negatif yang disebut lipopolisakarida. Dinding sel *E. coli* lebih kompleks sehingga lebih sulit ditembus oleh senyawa antibakteri. Menurut Muharni *et al.* (2017), struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* relatif lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri mudah masuk ke dalam sel. Berbeda dengan bakteri *Escherichia coli*, dinding sel bakteri relatif lebih kompleks dan berlapis tiga dimana lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan sehingga bakteri gram negatif memiliki sifat kurang rentan terhadap beberapa senyawa antibakteri. Hal ini diperkuat oleh Poeloengan dan Andriani (2013), menambahkan, lemak yang terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif dapat memengaruhi aktivitas timohidroquinon sehingga menyebabkan berkurangnya daya hambat yang dihasilkan.

Hasil nilai zona hambat isolat BAL dari peda menunjukkan bahwa isolat dari sampel layang (L11a) menghasilkan nilai zona hambat terbesar sebesar 4,35±0,22. Zona hambat terkecil berasal dari isolat ikan buntal (B34c) sebesar 2,68±0,23. Isolat dari ikan layang menghasilkan nilai zona hambat berkisar dari 3,43±0,15 - 4,35±0,22; isolat ikan petek sebesar 3,35±0,18 - 4,18±0,33; dan ikan buntal sebesar 2,68±0,23 - 3,33±0,25. Nilai zona hambat terbesar pada ikan layang dapat dipengaruhi oleh hasil metabolisme BAL. BAL menghasilkan senyawa seperti asam laktat, hidrogen peroksida, karbondioksida maupun bakteriosin. Menurut Prameswari *et al.* (2014), senyawa penghambat pertumbuhan bakteri lain hasil metabolisme bakteri asam laktat seperti asam laktat dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mekanisme produksinya diatur oleh gen-gen dalam kromosom. Sedangkan diasetil dan bakteriosin mekanisme produksinya diatur oleh gen-gen dalam plasmid yang relatif peka terhadap perubahan lingkungan termasuk keadaan kering atau Aw rendah.

Bakteriosin merupakan toksin yang menyerupai protein yang dilepaskan oleh bakteri untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan strain serupa. Besar zona hambat yang terbentuk salah satunya dapat disebabkan oleh aktivitas bakteriosin. Aktivitas produksi bakteriosin dapat dipengaruhi oleh sumber karbon maupun nitrogennya. Menurut Fauziah *et al.* (2014), Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri probiotik yang bersifat antimikrob dan mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Perbedaan besar daerah hambat

pertumbuhan yang dibentuk pada setiap bakteri disebabkan perbedaan aktivitas hambat yang dipengaruhi oleh jenis dinding sel bakteri yang dihambat. Hal ini berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikrob karena perbedaan pada struktur dinding sel. Aktivitas produksi bakteriosin oleh bakteri probiotik akan dipengaruhi faktor pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan. Jenis sumber karbon dan nitrogen yang dipergunakan dalam medium produksi mempengaruhi laju pertumbuhan sel bakteri probiotik, yang selanjutnya berpengaruh pada metabolisme produksi bakteriosin. Selain itu, tingkat salinitas medium produksi seperti kandungan garam media juga akan memengaruhi metabolisme produksi bakteriosin itu.

BAL memanfaatkan karbohidrat pada sampel peda untuk tumbuh selama proses fermentasi sehingga menghasilkan asam laktat. Jumlah asam laktat yang dihasilkan isolat BAL berbeda-beda dipengaruhi oleh sampel. Asam laktat sebagai metabolit sekunder memiliki potensi penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli*. Perusakan dinding sel bakteri *E. coli* oleh asam laktat disebabkan adanya penurunan pH. Menurut Halim dan Zubaidah (2013) bahwa mekanisme antimikroba yang disebabkan oleh asam organik yang dihasilkan isolat BAL yaitu dengan penurunan pH, molekul asam organik yang tidak terdisosiasi sangat tinggi, dalam bentuk tidak terdisosiasi, asam organik cenderung lipofilik dan masuk melalui membran sel. pH dalam sel menjadi lebih rendah yang menyebabkan disosiasi molekul asam sehingga proton ( $H^+$ ) dan anion terlepas. Banyaknya asam yang tidak terdisosiasi dapat mengubah permeabilitas membran sel yang menyebabkan hancurnya sistem transpor bahan pada bakteri tersebut. Hal ini menyebabkan dapat kematian (lisis) sel. Perusakan dinding sel pada bakteri menyebabkan terganggunya sintesis komponen penyusun dinding sel, hal ini menyebabkan dinding sel sangat lemah dan mengalami lisis.

#### ***Staphylococcus aureus***

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat BAL dari sampel peda terhadap bakteri *S. aureus* tersaji dalam tabel 5. Hasil zona hambat terbesar dari ketiga jenis ikan peda terhadap *S. aureus* dari L11b  $5,92 \pm 0,43$  mm. Zona hambat tertinggi dari peda ikan petek terbentuk dari isolat P21c terhadap *S. aureus* sebesar  $4,67 \pm 0,58$  mm dan dari ikan buntal isolat B33a sebesar  $3,7 \pm 0,46$  mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa perbedaan bahan baku ikan pembuatan peda memiliki kekuatan antibakteri yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *S. aureus*. Hasil zona hambat terhadap *S. aureus* berkisar antara  $2,73 \pm 0,68$  mm sampai dengan  $5,92 \pm 0,43$  mm menunjukkan bahwa kekuatan antibakteri isolat ikan peda termasuk dalam kategori lemah. Menurut David dan Stout

(1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hal ini diperkuat oleh Kasi *et al.* (2017), aktivitas penghambatan oleh senyawa antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekeliling kertas cakram. Zona bening dengan batas tepi lingkaran yang tegas dan jelas. Pada senyawa antibakteri dari BAL, zona bening dengan batas tepi lingkaran yang jelas dan tegas disebabkan oleh adanya aktivitas bakteriosin, karena bakteriosin memiliki sifat *single hit inactivation* yang artinya satu molekul bakteriosin akan membunuh satu sel bakteri indikator. Bakteriosin juga mencegah sintesis peptidoglikan yang utuh, sehingga dinding sel bakteri gram positif akan melemah dan akibatnya sel bakteri akan mengalami lisis.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat BAL dari peda ikan layang, petek dan buntal terhadap *S. aureus*

No	Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)
1	L11a	$4,62 \pm 0,20^{cd}$
2	L11b	$5,92 \pm 0,43^d$
3	L11d	$4,2 \pm 0,10^{bc}$
4	L11e	$3,78 \pm 0,65^{abc}$
5	P13a	$4,47 \pm 0,50^{cd}$
6	P13b	$4,55 \pm 0,71^{cd}$
7	P13c	$4,05 \pm 0,41^{abc}$
8	P13d	$4,52 \pm 0,84^{cd}$
9	P21c	$4,67 \pm 0,58^{cd}$
10	B33a	$2,52 \pm 0,20^a$
11	B33d	$3,7 \pm 0,46^{abc}$
12	B34c	$2,73 \pm 0,68^{ab}$
13	B24a	$3,35 \pm 0,63^{abc}$
14	B25b	$3,22 \pm 0,23^{abc}$

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan  $\pm$  standar deviasi
- Data sudah dikurangi dengan diameter cakram yaitu 5 mm
- Data diikuti dengan tanda huruf kecil berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Agen antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki oleh bakteri probiotik mempunyai efek yang sangat penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen. Hal ini dikarenakan asam laktat mampu menurunkan pH menjadi rendah sehingga bakteri patogen akan sulit bertahan hidup, sedangkan bakteriosin menghambat produksi energi dan biosintesis protein pada bakteri patogen. Menurut Prameswari *et al.* (2014), besar kecilnya daya hambat dapat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa antimikroba, jumlah mikroba, suhu, waktu, jenis

mikroba, pH dan zat atau bahan organik terlarut. Bakteri probiotik yang merupakan bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikroba. Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas yaitu terakumulasinya asam organik yang disertai dengan penurunan nilai pH. Efek antimikroba dari asam organik merupakan akibat dari turunnya nilai pH dan juga bentuk tidak terdisosiasi dari molekul asam organik. Efek bakterisidal senyawa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adalah karena terjadinya oksidasi pada sel bakteri, yaitu gugus sulfhidril dari protein sel sehingga mendenaturasi sejumlah enzim dan terjadinya peroksidasi dan lipid membran meningkatkan permeabilitas membran. CO<sub>2</sub> bersifat antibakteri karena menghambat dekarboksilasi enzimatis. Selain itu terdapat bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri sejenis. Aktivitas bakterisidal atau efek pembunuhan terhadap bakteri yang sensitif yaitu melalui destabilisasi fungsi permeabilitas membran sel dan pembentuk energi

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lainnya sehingga berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa yang berasal dari bakteri asam laktat yaitu asam laktat, bakteriosin, hidrogen peroksida, maupun karbondioksida. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan BAL memiliki kekuatan antibakteri yang berbeda tergantung dari jenis sampelnya. Menurut Fauziah *et al.* (2014), Perbedaan besar daerah hambat pertumbuhan yang dibentuk pada setiap bakteri disebabkan perbedaan aktivitas hambat yang dipengaruhi oleh jenis dinding sel bakteri yang dihambat. Hal ini berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikrob karena perbedaan pada struktur dinding sel. Aktivitas produksi bakteriosin oleh bakteri probiotik akan dipengaruhi factor pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan. Jenis sumber karbon dan nitrogen yang dipergunakan dalam medium produksi mempengaruhi laju pertumbuhan sel bakteri probiotik, yang selanjutnya berpengaruh pada metabolisme produksi bakteriosin.

Dinding sel bakteri gram positif seperti *S. aureus* terdiri dari polisakarida. Dinding sel yang tersusun atas polisakarida tersebut lebih mudah mengalami denaturasi dibandingkan dinding yang tersusun oleh fosfolipid. Hal tersebut yang menyebabkan nilai zona hambat bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan *E. coli*. Menurut Helmiyati dan Nurrahman (2010), dinding sel bakteri yang paling mudah terdenaturasi adalah dinding sel yang tersusun dari polisakarida dibandingkan dengan yang tersusun dari fosfolipid. Dinding sel bakteri gram positif tersusun dari polisakarida, diantaranya mengandung peptidoglikan, asam teikoat dan asam teikuronat. Dinding sel bakteri gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid

dan beberapa protein yang sering disebut sebagai *auto layer*. Hal ini diperkuat oleh Poeloengan dan Andriani (2013), peptidoglikan merupakan komponen utama penyusun dinding sel bakteri. Bakteri *S. aureus* memiliki dinding yang terdiri dari 50% lapisan peptidoglikan dan memiliki susunan dinding yang kompak. Susunan dinding inilah yang menyebabkan *S. aureus* bersifat sangat sensitif terhadap antibiotik.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Isolat BAL yang diperoleh yaitu sebanyak 14 isolat dari 3 jenis ikan berbeda, 4 isolat dari ikan layang (*Decapterus spp.*), 5 isolat ikan petek (*Leiognathus sp.*), dan 5 isolat ikan buntal (*Tetraodon sp.*), dimana semua isolat memiliki bentuk sel bulat (*diplococcus*); dan
2. Nilai zona hambat tertinggi terhadap bakteri *E. coli* berturut-turut berasal dari isolat pada ikan layang kode L11a, kemudian isolat pada ikan petek P21c P13c dan terakhir dari isolat pada ikan buntal B33a B24a, sedangkan nilai zona hambat tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* secara berturut-turut berasal dari isolat pada ikan layang L11b, isolat pada ikan petek P21c kemudian isolat pada ikan buntal B33d, akan tetapi nilai zona hambat pada kedua bakteri uji secara statistik tidak berbeda nyata.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah, R. 2007. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. PT. Bumi Aksara, Jakarta, 160 hlm.
- Astuti. 2016. Isolation, Characterization, and Identification Lactic Acid Bacteria from Chicken Waste Faeces that Potential as Probiotics. *International Journal of Scientific and Research Publication*, 6 (5): 180-191.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 1991. SNI 01-2359. Produk Perikanan Penentuan Kadar Garam. Badan Standarisasi Nasional Indonesia. Jakarta.
- Buntin, N., S. Chanthachum, and T. Hongpattarakere. 2008. Screening of Lactic Acid Bacteria from Gastrointestinal Tracts of Marine Fish for Their Potential Use as Probiotics. *J.Sci.Technol* 30(Suppl.1): 141-148.
- Darmayasa, I.B.G. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar. *Jurnal Bumi Lestari*, 8(2):122-127.
- David, W.W. and T.R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22(4): 659-665.

- Desniar, D. Poernomo, dan W. Wijatur. 2009. Pengaruh Konsentrasi Garam pada Peda Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) dengan Fermentasi Spontan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 12(1): 73-87.
- Fajri, Y., A.A. Sukarso, dan D.A.C. Rasmi. 2014. Fermentasi Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) dalam Pembuatan Peda dengan Penambahan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terkandung dalam Terasi Empang pada Berbagai Konsentrasi Garam. *Jurnal Biologi Tropis*, 14(2): 153-161.
- Fauziah, P.N., J. Nurhajati, dan Chrysanti. 2014. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella* i ATCC 700603, CT1538, dan S941. *MKB*, 47(1): 35-41.
- Garbutt, John. 1997. *Essentials of Food Microbiology*. Arnold, London, 251 hlm.
- Genisa, A.S. 1998. Beberapa Catatan Tentang Biologi Ikan Layang Marga *Decapterus*. *Oseana*, 23(2): 27-36.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Binarupa Aksara, Jakarta, 457 hlm.
- Halim, C. N. dan E. Zubaidah. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1):129-137.
- Helmiyati, A.F. dan Nurrahman. 2010. Pengaruh Konsentrasi Tawas terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 1(01): 1-6.
- Hutkins, R.W. 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, Iowa, 473 hlm.
- Indriati, N., I.P.D.Setiawan, dan Yulneriwani. 2006. Potensi Antibakteri Asam Laktat dari Peda, Jambal Roti, dan Bekasam. *Jurnal Perikanan (J. Fish Sci.)*, 8(2):153-159.
- Kasi, P.D., Ariandi, dan H. Mutmainnah. 2017. Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biotropika*, 5(3): 97-101.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2012. *Statistik Perikanan Tangkap Indonesia Tahun 2011*. Direktorat Jendral Perikanan Tangkap, Jakarta.
- Khalid, Khasalisanni. 2011. An Overview of Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 1(3): 1-13.
- Kusmiati dan A. Malik. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbc1 pada Berbagai Media. *MAKARA Kesehatan*, 6(1): 1-6.
- Muharini, Fitriya, dan S. Farida. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(2): 127-135.
- Nester. E.W., D.G. Anderson, Jr.C.E. Roberts, and M.T. Nester. 2007. *Microbiology a Human Perspective 5th Edition*. McGraw-Hill, New York, 811 hlm.
- Nurbaiti, A., Rosyidi dan M. Ali. 2016. Skrinning Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Usus Ayam Broiler sebagai Kandidat Probiotik untuk Unggas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*, 2(1):144-149.
- Nuryady, M.M., T. Istiqomah, R Faizah, S. Ubaidillah, Z. Mahmudi, dan Sutoyo. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Youghurt. *UNEJ JURNAL*, 1(5): 1-11.
- Parameswari, A., S. Kuntari, dan Herawati. 2010. Daya Hambat Probiotik terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Indonesian Pediatric Dental Journal*, 2(2): 16-19.
- Pelczar, JR.M.J., E.C.S. Chan, and N.R. Krieg. 1968. *Microbiology*. McGraw-Hill, Inc., United States of America, 918 hlm.
- Poeloengan, M dan Andriani. 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Jurnal Veteriner*, 14(2):145-152.
- Putra, T.F., H. Suprpto, W. Tjahjaningsih, dan H. Pramono. 2017. The Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Peda, an Indonesian Traditional Fermented Fish. Asean-Fen International Fisheries Symposium. 1-7.
- Rachmawati, I., Suranto, dan R. Setyaningsih. 2005. Uji Antibakteri Bakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi Terhadap Bakteri Patogen. *Bioteknologi*, 2(2):43-48.
- Rochima, E. 2005. Pengaruh Fermentasi Garam terhadap Karakteristik Jambal Roti. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 8 (2): 46-56.
- Romadhon, Subagiyo, dan S. Margiono. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Sainstek Perikanan*, 8(1): 59-64.
- Safrida, Y.D., C. Yulvizar, dan C.N. Devira. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Berpotensi Probiotik pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.). *Depik*, 1(3): 200-203.
- Suhaeni dan A. Syukur. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangke Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *BIOGENESIS*, 4(2): 79-83.
- Tjahjo, D.W.H. dan Riswanto. 2012. Interaksi Trofik Juvenil Ikan dan Udang dalam Pemanfaatan Makanan Alami di Laguna Segara Anakan, Cilacap. *J.Lit.Perikanan.Ind.*, 18(1): 27-33.

- Ummah, R.N. 2015. Analisis Keragaman Bakteri Pada Saluran Pencernaan Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy* Lac.) dan Ikan Gabus (*Channa striata*) Melalui Pendekatan Culture-Independent. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ummamie, L., Rastina, Erina, T.R. Ferasyi, Darniati, dan Al Azhar. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Keumamah di Pasar Tradisional Lambaro, Aceh Besar. *JIMVET*, 1(3): 574-583.
- Ustadi, Suparno, dan E.S. Rahayu. 2002. Penyiapan Starter Kering Bakteri Asam Laktat Halofilik untuk Pengolahan Hasil Perikanan Fermentatif Beragam. *Agritech*, 22(2): 41-47.
- Wibowo, R.L.M.S.A., T. Anggraini, A, Pertiwiningrum, dan S. Triatmojo. Eco Leather Penyamakan Ikan Buntal. ATK Press, Yogyakarta. 101 hlm.