

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI RUSIP IKAN TERI  
(*Stolephorus* sp.) DENGAN KONSENTRASI GULA AREN CAIR YANG BERBEDA**

*Antibacterial activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.) with Difference Liquid Palm Sugar Concentration*

**Frisilia Nadhira Rimadhini<sup>1\*</sup>, Sumardianto<sup>1</sup>, Romadhon<sup>1</sup>**

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

**ABSTRAK**

Rusip adalah produk fermentasi ikan teri dengan gula aren dan garam yang menghasilkan. Gula aren pada rusip digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. BAL berpotensi menghambat bakteri patogen produk perikanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dengan perbedaan konsentrasi gula aren cair dan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Metode penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diterapkan adalah penambahan konsentrasi gula aren cair 5%; 7,5%; 10%; 12,5% dan 15% dengan tiga kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan uji sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur. Pengujian yang dilakukan antara lain pH,  $a_w$ , TPC BAL, uji morfologi, pewarnaan gram dan katalase serta antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi gula aren cair terbaik adalah 10% dengan pH 6,25, nilai  $a_w$  0,77 dan TPC BAL  $2,4 \times 10^5$  cfu/g. Hasil uji morfologi, pewarnaan gram dan uji katalase dari 20 isolat BAL adalah 15 isolat berbentuk bulat, berwarna ungu (positif), katalase negatif sedangkan 5 isolat berbentuk bulat, berwarna ungu dan katalase positif. Hasil zona hambat yang dihasilkan dari isolat BAL asal rusip terhadap bakteri *E. coli* antara 2,85 mm - 3,43 mm dan *S. aureus* antara 2,55 mm - 4,10 mm. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa perbedaan konsentrasi gula aren cair pada pembuatan rusip tidak berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

**Kata kunci:** ikan teri, rusip, gula aren cair, bakteri asam laktat, antibakteri

**ABSTRACT**

*Rusip is a fermented anchovy product with palm sugar and salt that produces BAL. Palm sugar is used as the energy source for bacterial growth. Lactic acid bacteria have the potential to inhibit the pathogenic bacteria of fishery products. This study aimed to isolate BAL in different concentrations of liquid palm sugar and the antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. This study used experimental laboratories with CRD. The treatments used were the addition of liquid palm sugar with concentration 5%; 7.5%; 10%; 12.5% and 15% respectively with three repetitions. Data were analyzed using ANOVA which was followed by Tukey's HSD. pH,  $a_w$ , TPC, morphological tests, gram staining and catalase and antibacterial were carried out to test the samples. The best concentration was the addition 10% of liquid palm sugar with pH value 6.25,  $a_w$  0.77 and TPC  $2.4 \times 10^5$  cfu/g. Morphological test, gram staining and catalase test of 20 BAL isolates showed 15 round shapes, purple (positive) with negative catalase while 5 isolates were in round shapes, purple and positive catalase. Inhibitory zones produced from BAL isolates from Rusip against *E. coli* between 2.85 mm to 3.43 mm and *S. aureus* between 2.55 mm to 4.10 mm. Based on the results, the differences in liquid palm sugar concentrations have no significant different in the inhibition zone of *E. coli* and *S. aureus* bacteria.*

**Keywords:** anchovy, rusip, liquid palm sugar, lactic acid bacteria, antibacterial

**PENDAHULUAN**

Ikan teri (*Stolephorus* sp.) adalah salah satu sumber daya ikan pelagis kecil yang keberadaannya cukup melimpah. Ikan ini memiliki kelebihan karena seluruh bagian tubuhnya dapat dikonsumsi. Kelimpahan produksi ikan teri di Indonesia banyak dimanfaatkan oleh masyarakat menjadi olahan tradisional, salah satunya adalah rusip. Rusip merupakan produk fermentasi ikan yang dibuat dengan menggunakan bahan baku ikan teri secara

anaerob. Menurut Koesoemawardani dan Ali (2016), rusip dalam pembuatannya menggunakan gula aren, garam dan ikan teri. Karakter sensorinya yaitu berwarna coklat muda sampai abu-abu tua, rasa manis, asam dan asin serta flavor yang khas.

Penambahan gula aren pada rusip dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat sebagai sumber energi dan sebagai pengawet alami makanan. Nehemya *et al.*, (2017) menyatakan bahwa ketersediaan gula merah sebagai nutrisi

dimana semakin banyak gula merah maka dapat menunjang peningkatan jumlah bakteri yang kemudian melakukan aktivitas perombakan terhadap gula secara aktif. Pengolahan secara fermentasi anaerob menghasilkan bakteri asam laktat yang pada proses pertumbuhannya menghasilkan senyawa antibakteri. BAL berperan penting dalam fermentasi makanan yang menyebabkan perubahan aroma dan tekstur bersamaan dengan pengaruh pengawetan dengan hasil peningkatan daya awet pada produk akhir. Keawetan ini disebabkan karena BAL berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. BAL dapat memproduksi beberapa metabolit seperti asam organik (asam laktat dan asetat), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin (Desniar *et al.*, 2012) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. Namun perlu penelitian lebih lanjut apakah bakteri asam laktat yang tumbuh menghasilkan senyawa yang dapat menghambat aktivitas bakteri patogen.

Gula aren mengandung sukrosa yang dapat disintesa oleh BAL menjadi glukosa dan fruktosa. Penambahan konsentrasi gula di atas 40% akan mengakibatkan air dalam bahan pangan akan terikat sehingga tidak dapat dipergunakan oleh mikroba (Muchtadi dan Sugiyono, 2013), sehingga pertumbuhan BAL akan terhambat. Oleh karena itu, konsentrasi penggunaan gula aren sangat penting.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik rusip ikan teri dan karakteristik isolat BAL yang dihasilkan dan sifat antibakteri bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* berdasarkan zona hambat yang terbentuk.

#### **METODE PENELITIAN**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan teri segar yang diperoleh dari Pasar Tambak Lorok, Semarang Utara. Bahan baku tambahan lainnya antara lain gula aren cair dan garam krosok yang diperoleh dari Pasar Jati, Banyumanik, Semarang. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis antara lain MRS agar,  $\text{CaCO}_3$ , Na-azide,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ , larutan buffer, aquades, kristal violet, lugol, safranin, minyak imersi,  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%, alkohol, nutrient agar, nutrient broth, isolat *E. coli* dan *S. aureus*.

#### **Pembuatan Rusip**

Rusip dibuat berdasarkan (Susilowati *et al.*, 2014) dengan modifikasi. Ikan teri dicuci dan dibersihkan kemudian ditiriskan. Setelah itu, ikan teri ditimbang sebanyak 100 g dan dimasukkan ke dalam wadah atau stoples. Kemudian dilakukan penambahan garam sebanyak 25% (b/b) dari berat ikan dan diaduk sampai rata. Setelah garam diaduk rata, ditambahkan gula aren cair sebanyak 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% (b/v) dari berat ikan. Kemudian dilakukan fermentasi selama 7 hari.

#### **Uji Derajat Keasaman (pH)**

Pengujian pH dilakukan berdasarkan (AOAC, 1995). Sampel dalam wadah diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter. Terlebih dahulu pH meter dinyalakan, kemudian elektroda pH meter dimasukkan dalam buffer pH 4,31 dan 6,86. Sampel ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades dan dimasukkan ke dalam gelas ukur. Setelah itu elektroda dicelupkan pada larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Nilai yang diperoleh dari hasil pembacaan pada pH meter sampai angka digital menunjukkan nilai pH tetap.

#### **Uji Kadar $a_w$**

Uji kadar  $a_w$  dilakukan berdasarkan (Susanto, 2009). Pengukuran aktivitas air menggunakan alat  $a_w$  meter. Sampel disiapkan dan dimasukkan ke dalam wadah yang telah disediakan.  $a_w$  meter dibuka dan sampel dimasukkan. Alat ditutup kemudian ditunggu hingga 3 menit dan setelah 3 menit skala pada  $a_w$  meter dibaca dan dicatat.

#### **Total Plate Count Bakteri Asam Laktat**

Uji TPC BAL berdasarkan (Putri *et al.*, 2014) dengan modifikasi. Isolasi bakteri asam laktat dimulai dengan mengambil 10 g sampel, kemudian dimasukkan kedalam 90 ml buffer fosfat dan dihomogenkan menjadi pengenceran  $10^{-1}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai dengan  $10^{-5}$ . Masing-masing pengenceran tersebut dilakukan metode *pour plate* pada media MRS agar yang ditambah  $\text{CaCO}_3$  1%. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Isolat yang tumbuh dihitung, kemudian diambil secara aseptik untuk dipindahkan dan digoreskan dengan metode kuadran untuk memperoleh koloni tunggal. Koloni yang terlihat terpisah kemudian dilakukan pemurnian pada media yang sama.

#### **Uji Pewarnaan Gram**

Pengecatan Gram berdasarkan (Romadhon *et al.*, 2012) dilakukan pada kultur bakteri umur 24 jam yang ditumbuhkan pada medium MRS padat. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif. Bakteri gram positif akan memberikan warna ungu ketika di beri cat Gram. Warna ungu tersebut terjadi karena dinding sel bakteri mengikat cat kristal violet yang diperkuat oleh iodine. Kristal violet tersebut tidak akan hilang pada waktu diberi cat peluntur, sehingga tidak terpengaruh pada saat diberi cat penutup yang berwarna merah. Hasil pengecatan gram ini juga dapat digunakan untuk melihat bentuk dan susunan sel bakteri asam laktat. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 1000x.

#### **Uji Katalase**

Uji katalase berdasarkan (Widyadnyana *et al.*, 2015). Bakteri diuji katalase dengan diambil

satu tetes kultur isolat selanjutnya di tetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan diamati adanya gelembung gas yang terbentuk. Bakteri pada uji katalase negatif selanjutnya dibuat sediaan apus pada objek gelas 230 dengan pewarnaan Gram dan diamati di bawah mikroskop

**Uji Antibakteri**

Uji antibakteri berdasarkan (Kusmawarti *et al.*, 2014). Bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) ditumbuhkan pada *nutrient broth* pada suhu 37°C selama 24 jam. Sumuran berdiameter 5 mm pada *nutrient agar* disiapkan dan sebanyak 10 µL isolat BAL ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antimikroba dinyatakan positif jika terbentuk zona bening/halo yang tegas disekitar sumuran.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Derajat Keasaman (pH)**

Derajat keasaman (pH) menunjukkan tingkat keasaman atau basa dari suatu bahan dan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui nilai pH pada bahan serta nilai pH optimal untuk bakteri asam laktat tumbuh. Hasil analisis pH pada rusip ikan teri tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis pH pada Rusip Ikan Teri

| Perlakuan | Nilai pH                  |
|-----------|---------------------------|
| 5%        | 6,33 ± 0,04 <sup>a</sup>  |
| 7,5%      | 6,25 ± 0,01 <sup>b</sup>  |
| 10%       | 6,25 ± 0,03 <sup>b</sup>  |
| 12,5%     | 6,30 ± 0,01 <sup>ab</sup> |
| 15%       | 6,30 ± 0,02 <sup>ab</sup> |

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data yang diikuti dengan *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Nilai pH paling rendah berasal dari perlakuan penambahan gula aren cair 7,5% dan 10%. Nilai derajat keasaman dipengaruhi oleh penambahan gula aren cair dan keberadaan garam. Gula aren mengandung sukrosa dan gula pereduksi lainnya yang dapat digunakan bakteri sebagai sumber energi (Koesoemawardani dan Ali, 2016). Rusip dengan penambahan gula aren cair 5% berbeda nyata dengan penambahan 7,5% dan 10% namun tidak berbeda nyata dengan 12,5% dan 15%. Derajat keasaman yang dihasilkan masih berada pada kisaran angka 6. Keberadaan gula di lingkungan akan digunakan oleh bakteri asam laktat sebagai nutrisi yang selanjutnya dirombak menjadi asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat (Desniar *et al.*, 2012) sehingga nilai derajat keasaman bahan menurun. Setiap spesies BAL

memiliki rentang nilai derajat keasaman optimal yang berbeda. Selain itu, lama waktu fermentasi juga mempengaruhi nilai akhir yang dihasilkan. Menurut Rault *et al.* (2009), karakteristik berbagai macam pertumbuhan BAL meliputi konsentrasi biomassa maksimal, laju pertumbuhan spesifik, masa fermentasi, konsumsi gula atau pertumbuhan, dan produk fermentasi secara signifikan dipengaruhi oleh derajat keasaman. Rentang pH optimal telah ditemukan untuk beberapa bakteri asam laktat seperti *Streptococcus thermophilus* (6.5), *Lactobacillus bulgaricus* (5.8 hingga 6) dan *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (6.3 hingga 6.9). Hal ini diperkuat oleh Schillinger *et al.* (2006), bahwa bakteri asam laktat biasanya tumbuh dengan sumber karbohidrat yang melimpah. Keragaman genetik dan variasi habitatnya sangat luas. Sebagian besar BAL tumbuh pada pH awal 6 – 7 untuk pertumbuhannya. Namun begitu, tidak ada batas umum pH, temperatur, atau parameter lain untuk BAL. Batas pertumbuhan berbeda tergantung dari spesies.

**Aktivitas air (a<sub>w</sub>)**

Bakteri asam laktat membutuhkan air sebagai salah satu faktor intrinsik yang mempengaruhi pertumbuhannya. Aktivitas air (a<sub>w</sub>) menunjukkan jumlah air yang terdapat dalam bahan pangan (Leviana dan Vita, 2017). Pengujian a<sub>w</sub> dilakukan untuk menentukan nilai a<sub>w</sub> optimal bakteri asam laktat untuk tumbuh serta mengetahui jenis BAL yang berperan dalam proses fermentasi. Hasil analisis a<sub>w</sub> pada rusip ikan teri tersedia pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis a<sub>w</sub> pada Rusip Ikan Teri

| Perlakuan | Nilai a <sub>w</sub>      |
|-----------|---------------------------|
| 5%        | 0,80 ± 0,02 <sup>a</sup>  |
| 7,5%      | 0,78 ± 0,01 <sup>ab</sup> |
| 10%       | 0,77 ± 0,01 <sup>ab</sup> |
| 12,5%     | 0,76 ± 0,00 <sup>bc</sup> |
| 15%       | 0,74 ± 0,01 <sup>c</sup>  |

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data yang diikuti dengan *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Nilai a<sub>w</sub> dengan penambahan gula aren cair 5% berbeda nyata dengan penambahan 12,5% dan 15% namun tidak berbeda nyata dengan penambahan 7,5% dan 10%, serta penambahan 15% berbeda nyata dengan penambahan 7,5% dan 10%. Nilai a<sub>w</sub> bahan pangan dipengaruhi oleh keberadaan gula dan garam. Keberadaan garam dan gula secara sinergis menarik air keluar dari bahan pangan. Garam akan masuk ke dalam bahan pangan sehingga mengakibatkan tekanan osmotik pada sel mikroorganisme (Das *et al.*, 2019). Proses ini akan

berhenti ketika keseimbangan osmosis telah terjadi. Kadar gula yang semakin tinggi akan mendukung turunnya nilai  $a_w$  bahan pangan karena sifat higroskopis gula yang dapat menarik air (Buckle *et al.*, 2007). Namun begitu, beberapa jenis bakteri asam laktat dapat bertahan dan tumbuh pada keadaan gula dan garam yang tinggi (Menconi *et al.*, 2014). Menurut Buckle *et al.* (2007), larutan gula dan garam yang pekat dapat mengakibatkan tekanan osmotik pada sel mikroorganisme dengan menyerap ke luar air dari dalam sel dan menyebabkan sel kekurangan air dan mati. Beberapa bakteri dapat tahan dan tumbuh pada larutan gula yang sangat pekat dan umumnya dikenal sebagai organisme osmofilik. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Das *et al.* (2019), isolat *L. casei*, *L. pentosus*, *L. plantarum* dan *P. pentosaceus* yang diisolasi dari bir nasi dapat tumbuh pada pH rendah, garam *biles*, tekanan osmotik tinggi dan temperature yang bervariasi. Nilai batas  $a_w$  bakteri asam laktat tergantung dari keberadaan zat terlarut, misalnya garam seperti NaCl dan KCl, dan gula seperti glukosa dan sukrosa. Dalam kasus syok hiperosmotik (nilai  $a_w$  rendah di luar sel) yang menyebabkan hilangnya tekanan turgor, bakteri akan merespon dengan osmoregulasi. Bakteri juga akan meningkatkan kadar zat terlarut dalam sel, sehingga tekanan osmotik dalam sel pun meningkat. Membrane fosfolipid dan asam lemak pada sel juga akan berubah.

Nilai aktivitas air pada rusip cenderung menurun seiring bertambahnya kadar gula aren cair. Hal ini berhubungan dengan respon stress osmotik oleh bakteri asam laktat. Menurut Serrazanetti *et al.* (2013), studi tentang perbedaan stress osmotik akibat gula dan garam adalah kondisi hiperosmotik akibat gula, cenderung tidak merugikan dan bersifat respon sementara. Sel dapat menyeimbangkan konsentrasi sukrosa dan laktosa antara ekstra dan intraseluler. Bakteri dapat beradaptasi dari perubahan lingkungannya untuk bertahan hidup dengan cara akumulasi zat terlarut yang sesuai dibawah kondisi hiperosmotik. Zat terlarut ini dikenal sebagai osmoprotektan. Osmoprotektan dapat menstabilkan enzim, selain itu melindungi sel dari berbagai macam stress (stress osmotik, temperatur tinggi, pembekuan, pengeringan). Nilai  $a_w$  pada penelitian ini berada pada kisaran 0,8 – 0,7 menunjukkan bakteri asam laktat memiliki toleransi pada stress osmotik. Menurut Ijabadeniyi dan Pillay (2017), bakteri secara umum memiliki  $a_w$  optimal 0,9 dengan minimum 0,6 untuk pertumbuhan. Bakteri asam laktat yang tumbuh dapat bertahan hidup dalam kondisi stress osmotik, dimana hal tersebut dapat menurunkan tekanan turgor positif sel bakteri karena dehidrasi. Hal ini diperkuat oleh Papadimitriou *et al.* (2016), dalam kondisi tersebut sel akan memproduksi atau mengimpor molekul kecil yaitu osmolytes (contohnya glisin, betaine, kolin atau prolin) untuk menyeimbangan perbedaan

antara osmolaritas intraseluler dan ekstraseluler untuk memungkinkan perpindahan air melalui sel membran.

### TPC BAL

Pengujian mikrobiologi pada rusip ikan teri di tahap awal yaitu dengan penanaman bakteri pada MRS agar. Tujuan perhitungan bakteri asam laktat adalah untuk mengetahui apakah proses fermentasi telah terjadi sehingga bakteri asam laktat tumbuh. Koloni yang tumbuh kemudian dihitung dan dimasukkan ke dalam perhitungan untuk mengetahui jumlah total koloni bakteri asam laktat pada setiap perlakuan. Hasil analisis TPC BAL rusip ikan teri tersaji pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis TPC BAL pada Rusip Ikan Teri

| Perlakuan | Nilai TPC BAL (log cfu/g)  |
|-----------|----------------------------|
| 5%        | 5,25 ± 0,04 <sup>a</sup>   |
| 7,5%      | 5,34 ± 0,02 <sup>bc</sup>  |
| 10%       | 5,37 ± 0,00 <sup>c</sup>   |
| 12,5%     | 5,31 ± 0,02 <sup>abc</sup> |
| 15%       | 5,27 ± 0,04 <sup>ab</sup>  |

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 kali ulangan ± standar deviasi
- Data yang diikuti dengan *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Uji TPC menghasilkan pasangan perlakuan yang berbeda nyata yaitu 5% dengan 12,5% dan 15%, 7,5% dengan 10%, 12,5% dan 15%, 10% dengan 15%. Hasil analisis TPC BAL, nilai TPC berkisar antara  $1,78 \times 10^5$  –  $2,36 \times 10^5$  cfu/g. Hasil penelitian ini diperoleh lebih rendah dari penelitian lainnya. Penelitian rusip oleh Susilowati *et al.* (2014) pada hari ke 7 fermentasi total bakteri asam laktat mencapai 8,05 log cfu/g atau  $1,1 \times 10^8$  cfu/g. Rusip pada penelitian Koesoemawardani (2007) menunjukkan total bakteri asam laktat rusip Bangka berkisar antara 7,62 – 10,23 log cfu/g atau  $4,2 \times 10^7$  –  $1,7 \times 10^{10}$  cfu/g. Penelitian oleh Koesoemawardani *et al.* (2013) jumlah total BAL pada rusip spontan pada hari keempat belas 10,40 log cfu/g atau  $2,5 \times 10^{10}$  cfu/g. Nilai total BAL yang dibawah penelitian lain disebabkan oleh beberapa faktor, yakni laju pertumbuhan bakteri dan lama fermentasi yang dilakukan.

Bakteri memiliki kurva pertumbuhan terdiri dari fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase log, fase lag, fase statis dan fase kematian. Laju pertumbuhan bakteri asam laktat dalam penelitian ini termasuk dalam laju lambat. Menurut Fardiaz (1988), perbedaan dalam anatomi mikroba dan mekanisme pertumbuhan menyebabkan perbedaan dalam kecepatan pertumbuhan. Semakin kompleks struktur sel suatu organisme semakin lama waktu

yang dibutuhkan untuk membelah diri atau semakin lama waktu regenerasinya.

Ikan teri sebagai bahan baku mengandung protein yang terdiri dari beberapa asam amino esensial dan enzim. Saat fermentasi, enzim pada tubuh ikan akan memecah protein menjadi senyawa sederhana yang akan mengaktifkan enzim-enzim mikroba pada tahap selanjutnya. Bakteri akan memecah asam amino atau peptide secara autolisis. Proses proteolisis terjadi selama fermentasi dimana protein akan terhidrolisis menjadi asam amino, asam lemak, peptida, ammonia oleh mikroba atau enzim proteolitik yang secara alami terkandung pada bahan baku. Menurut Giyatmi (2017), secara alami, ikan mengandung enzim yang terdistribusi di seluruh tubuh ikan. Beberapa bagian tubuh ikan mengandung enzim yang aktif, seperti pada jaringan, otot, kelenjar seperti ginjal, dan darah. Aktivitas enzim sering menyebabkan perubahan deterioratif sebelum terjadinya pembusukan akibat bakteri. Enzim autolisis terdapat pada kadar yang tinggi pada jeroan dan kepala ikan daripada di jaringan lain. Pada ikan, tingkat enzim pencernaan dipengaruhi oleh tipe pemakan ikan, umur ikan, musim dan/atau suhu aklimasi dan sebagainya. Efek musim pada aktivitas enzim akan berbeda tergantung dari siklus bertelur, suhu air, siklus makanan dan variable lainnya. Aktivitas enzim dan kestabilan terhadap suhu berbeda dari tiap spesies.

#### Isolasi BAL

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan setelah pengujian TPC BAL. Koloni bakteri asam laktat yang terbentuk diambil 4 dari setiap perlakuan dengan zona bening. Koloni tersebut dipindahkan ke dalam 20 cawan petri berbeda dengan metode streak 4 kuadran untuk dimurnikan. Hasil pemurnian melalui metode streak ditemukan 20 isolat murni. Hasil isolasi BAL tersaji pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Isolasi BAL pada Rusip Ikan Teri

| Perlakuan | Isolat                                   | Keterangan |
|-----------|--|------------|
| A         | A1a4; A1b4;<br>A2b3; A2a3                | 4 Isolat   |
| B         | B1b4; B1a4;<br>B1b5; B1a5                | 4 Isolat   |
| C         | C1a3; C1b3                               | 2 Isolat   |
| D         | D1a4; D1b4;<br>D2a3; D2b3                | 4 Isolat   |
| E         | E1a3; E2a4;<br>E2a5; E2b5;<br>E3a4; E3b4 | 6 Isolat   |

Isolasi dilakukan dengan mengambil koloni yang memiliki zona bening, berwarna putih hingga putih kekuningan untuk kemudian dipindahkan ke dalam media selektif dengan metode goresan kuadran. Isolasi merupakan tahap awal identifikasi bakteri. Isolat yang zona bening diperoleh kemudian dilakukan pemurnian 4 sampai 5 kali

hingga koloni yang didapat seragam. Menurut Puspitasari *et al.* (2012), untuk memperoleh biakan murni dapat dilakukan. Proses isolasi mikroba adalah memisahkan mikroba satu dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba untuk dapat mempelajari sifat biakan, morfologi dan sifat mikroba lainnya.

Rusip melibatkan bakteri asam laktat selama proses fermentasinya. Bakteri asam laktat yang terdapat dalam rusip dipengaruhi oleh keberadaan gula sebagai sumber energi dan garam sebagai penyeleksi alami mikroorganisme dalam bahan pangan. Bakteri asam laktat yang terbentuk pada rusip memiliki karakteristik berwarna putih susu hingga kekuningan dan memiliki zona bening. Zona bening yang terbentuk akibat dari CaCO<sub>3</sub> yang terhidrolisis dengan asam dari bakteri asam laktat. Menurut Hwanhlem *et al.* (2010), kalsium karbonat merupakan salah satu indikator dalam menentukan isolate yang memproduksi asam, kalsium karbonat akan larut saat berinteraksi dengan asam sehingga zona bening terbentuk.

#### Morfologi dan Pewarnaan Bakteri

Pengujian morfologi bakteri dilakukan secara mikroskopis dimana dilakukan pengecatan gram bakteri dan diamati dibawah mikroskop. Bakteri gram positif akan menghasilkan warna keunguan sedangkan bakteri gram negatif menghasilkan warna merah. Hasil pewarnaan gram bakteri dari 20 isolat BAL tersaji pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Morfologi Sel, Pewarnaan Gram dan Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat Rusip Ikan Teri

| Isolat | Pewarnaan Gram | Katalase | Bentuk Sel |
|--------|----------------|----------|------------|
| A1a4   | +              | -        | Bulat      |
| A1b4   | +              | -        | Bulat      |
| A2b3   | +              | -        | Bulat      |
| A2a3   | +              | -        | Bulat      |
| B1b4   | +              | +        | Bulat      |
| B1a4   | +              | -        | Bulat      |
| B1b5   | +              | +        | Bulat      |
| B1a5   | +              | -        | Bulat      |
| C1a3   | +              | -        | Bulat      |
| C1b3   | +              | -        | Bulat      |
| D1a4   | +              | +        | Bulat      |
| D1b4   | +              | -        | Bulat      |
| D2a3   | +              | +        | Bulat      |
| D2b3   | +              | -        | Bulat      |
| E1a3   | +              | -        | Bulat      |
| E2a4   | +              | +        | Bulat      |
| E2a5   | +              | -        | Bulat      |
| E2b5   | +              | -        | Bulat      |
| E3a4   | +              | -        | Bulat      |
| E3b4   | +              | -        | Bulat      |

Berdasarkan tabel 5, seluruh 20 isolat memiliki gram positif yang ditunjukkan dengan warna

keungan setelah ditetesi pewarna gram dan memiliki bentuk bulat (*coccus*). Bakteri yang dihasilkan dari fermentasi rusip ikan teri memiliki ciri berbentuk bulat dengan sebagian besar membentuk rantai atau berpasangan. Genus bakteri yang memiliki karakteristik ini adalah genus *Streptococcus*. Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1984), Genus *Streptococcus* secara umum berbentuk bulat dengan ukuran diameter kurang dari 2 µm, membentuk rantai atau berpasangan. Selnya non motil dan tidak membentuk endospora. Seluruh spesiesnya termasuk anaerobik fakultatif, dengan karbohidrat difermentasi sebagian besar menjadi asam laktat. Pertumbuhannya berdasarkan perpanjangan dalam sumbu rantai dengan pembelahan sel terjadi dalam satu bidang. Secara optimal genus ini tumbuh pada suhu 37 °C. Pada penelitian Yuliana *et al.* (2018), bahwa pada awal fermentasi rusip saat pH masih mendekati netral (6-7), pertumbuhan genus *Streptococcus* mendominasi. Hal ini karena genus *Streptococcus* tumbuh optimal pada pH tersebut. Keberadaan *Streptococcus* pada awal fermentasi terdapat pula pada produk fermentasi ikan *Plaasom* asal Thailand (Kopermsub dan Yunchalard, 2010) dan *Burong Bangus* asal Filipina (Olympia *et al.*, 1992).

Bakteri asam laktat termasuk ke dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding peptidoglikan lebih tebal dari bakteri gram negative. Dinding peptidoglikan tersusun dari ikatan silang polisakarida oleh peptida. Ikatan inilah yang dapat mempertahankan warna dari kristal violet. Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari makromolekul kompleks yaitu terdiri dari peptidoglikan mengelilingi membran sitoplasma, terdiri dari glikopolimer lain seperti asam teikoat atau polisakarida dan protein. (Chartier *et al.*, 2014). Hal ini diperkuat oleh Budin *et al.* (2012), prosedur pengecatan gram dengan kristal violet dimana terikat dengan lapisan peptidoglikan dari bakteri gram positif. Perlakuan selanjutnya dengan larutan iodin pada kristal violet akan membentuk kompleks yang tidak terlarut. Lapisan peptidoglikan yang tebal pada bakteri gram positif tidak akan luntur dengan alcohol atau aseton sehingga mempertahankan warna ungunya.

#### Uji Katalase

Uji katalase merupakan salah satu uji biokimia untuk konfirmasi BAL. Bakteri asam laktat termasuk ke dalam jenis bakteri dengan katalase negatif yaitu tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air. Katalase adalah enzim yang dapat memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi O<sub>2</sub> dan air. Menurut Ismail *et al.* (2018), bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Beberapa bakteri membutuhkan oksigen untuk membentuk hidrogen peroksida, yaitu hasil

samping dari metabolisme aerobik yang toksik. Katalase adalah enzim yang merombak hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa 5 isolat dari 20 isolat BAL rusip ikan teri menghasilkan katalase positif, dan 15 isolat lainnya menghasilkan katalase negatif. Isolat dengan katalase negatif masuk ke dalam kriteria bakteri asam laktat karena tidak dapat menghasilkan gas saat ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Enzim katalase diproduksi oleh bakteri yang dapat mengubah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi oksigen dan air. Menurut Rinto *et al.* (2012), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri sehingga tidak menghasilkan oksigen, hal ini berarti isolat terpilih tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak mampu memproduksi enzim katalase.

#### Uji Antibakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang bersifat patogen. *E. coli* adalah bakteri uji universal untuk melihat efek antagonisme dari bakteri sampel. Hasil uji potensi antibakteri isolat BAL dari rusip ikan teri dengan perlakuan penambahan gula aren cair yang berbeda terhadap bakteri gram negatif *E. coli* tersaji dalam tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Potensi Antibakteri Isolat BAL dari Rusip Ikan Teri Terhadap *E. coli*

| Perlakuan | Isolat | Diameter Hambat (mm)        | Zona |
|-----------|--------|-----------------------------|------|
| A         | A1b4   | 3,11 ± 0,13 <sup>abcd</sup> |      |
|           | A1a4   | 3,00 ± 0,27 <sup>abc</sup>  |      |
|           | A2a3   | 3,43 ± 0,08 <sup>d</sup>    |      |
|           | A2b3   | 2,91 ± 0,18 <sup>ab</sup>   |      |
| B         | B1a4   | 3,01 ± 0,15 <sup>abc</sup>  |      |
|           | B1a5   | 2,96 ± 0,06 <sup>abc</sup>  |      |
| C         | C1a3   | 2,93 ± 0,20 <sup>ab</sup>   |      |
|           | C1b3   | 3,03 ± 0,15 <sup>abcd</sup> |      |
| D         | D1b4   | 2,85 ± 0,15 <sup>a</sup>    |      |
|           | D2b3   | 3,06 ± 0,10 <sup>abcd</sup> |      |
| E         | E1a3   | 3,11 ± 0,10 <sup>abcd</sup> |      |
|           | E2a5   | 3,23 ± 0,76 <sup>abcd</sup> |      |
|           | E2b5   | 3,25 ± 0,05 <sup>abcd</sup> |      |
|           | E3a4   | 3,3 ± 0,05 <sup>bcd</sup>   |      |
|           | E3b4   | 3,35 ± 0,20 <sup>cd</sup>   |      |

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 Kali ulangan ± standar deviasi
- Data yang diikuti dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Rentang nilai zona hambat bakteri asam laktat secara keseluruhan terhadap *E. coli* adalah 2,65 – 3,43 mm. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas didapatkan nilai P > 5% sehingga

dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) diperoleh sig.  $0,000 < 0,05$ , yang artinya perbedaan perlakuan penambahan gula aren cair berpengaruh terhadap zona hambat terhadap bakteri gram negative *E. coli* sehingga dapat dilakukan uji lanjutan, yaitu uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa beberapa perlakuan penambahan gula aren tidak memberikan pengaruh nyata terhadap zona hambat.

Berdasarkan hasil nilai zona hambat isolat BAL menunjukkan bahwa isolat dari perlakuan A (A1a3) menghasilkan nilai zona hambat tertinggi, yaitu  $3,43 \pm 0,076^d$ , sedangkan zona hambat terkecil diperoleh dari isolat perlakuan D (D1b4) yaitu  $2,85 \pm 0,150^a$ . Rentang nilai zona hambat isolat asal perlakuan A diperoleh  $2,91 \pm 0,175^{ab}$  -  $3,43 \pm 0,076^d$ , perlakuan B diperoleh  $2,96 \pm 0,057^{abc}$  dan  $2,96 \pm 0,057^{abc}$ , perlakuan C diperoleh  $2,93 \pm 0,202^{ab}$  dan  $3,03 \pm 0,152^{abcd}$ , perlakuan D diperoleh  $2,85 \pm 0,150^a$  dan  $3,06 \pm 0,104^{abcd}$ , serta perlakuan E diperoleh  $3,11 \pm 0,104^{abcd}$  -  $3,35 \pm 0,203^{cd}$ . Dilihat dari persebarannya, perlakuan penambahan gula aren cair tidak berpengaruh nyata terhadap terbentuknya zona hambat. Bakteri asam laktat mensintesa gula dalam metabolisme nya dan menghasilkan senyawa antibakteri seperti asam laktat, hydrogen peroksida, bakteriosin. Menurut Hafsan (2014), bakteriosin diproduksi oleh bakteri asam laktat (BAL), didefinisikan sebagai protein yang aktif secara biologi atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein) yang disintesis secara ribosomal, dan menunjukkan aktivitas antibakteri. Secara umum kondisi optimum produksi bakteriosin selain dipengaruhi oleh fase pertumbuhan, pH media, suhu inkubasi, jenis sumber karbon dan sumber nitrogen juga konsentrasi NaCl.

### **Staphylococcus aureus**

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen dengan gram positif. Keberadaannya pada pangan dapat merugikan kesehatan karena bersifat toksik. Hasil uji potensi antibakteri isolat BAL dari rusip ikan teri dengan perlakuan penambahan gula aren cair yang berbeda terhadap bakteri gram positif *S. aureus* tersaji dalam tabel 7.

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas didapatkan nilai  $P > 5\%$  sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) diperoleh sig.  $0,007 < 5\%$ , yang artinya perbedaan perlakuan penambahan gula aren cair berpengaruh terhadap zona hambat terhadap bakteri gram positif *S. aureus* sehingga dapat dilakukan uji lanjutan, yaitu uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa beberapa perlakuan penambahan gula aren tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan zona hambat. Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa seperti asam laktat, asam asetat, hydrogen peroksida, bakteriosin dan karbondioksida yang berpotensi sebagai antibakteri.

Tabel 7. Hasil Uji Potensi Antibakteri Isolat BAL dari rusip ikan teri terhadap *S. aureus*

| Perlakuan | Isolat | Diameter Hambat (mm) | Zona |
|-----------|--------|----------------------|------|
| A         | A1b4   | $2,65 \pm 0,48^a$    |      |
|           | A1a4   | $3,23 \pm 0,31^{ab}$ |      |
|           | A2a3   | $3,25 \pm 0,44^{ab}$ |      |
| B         | A2b3   | $2,55 \pm 0,23^a$    |      |
|           | B1a4   | $3,05 \pm 0,63^{ab}$ |      |
| C         | B1a5   | $3,16 \pm 0,15^{ab}$ |      |
|           | C1a3   | $3,06 \pm 0,60^{ab}$ |      |
| D         | C1b3   | $3,51 \pm 0,66^{ab}$ |      |
|           | D1b4   | $3,66 \pm 0,35^{ab}$ |      |
| E         | D2b3   | $3,20 \pm 0,20^{ab}$ |      |
|           | E1a3   | $3,51 \pm 0,45^{ab}$ |      |
|           | E2a5   | $3,80 \pm 0,35^{ab}$ |      |
|           | E2b5   | $3,83 \pm 0,67^{ab}$ |      |
|           | E3a4   | $4,10 \pm 0,36^b$    |      |
|           | E3b4   | $3,75 \pm 0,40^{ab}$ |      |

Keterangan :

- Data merupakan hasil dari rata-rata 3 Kali ulangan  $\pm$  standar deviasi
- Data yang diikuti dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Senyawa asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat menurunkan pH sehingga dapat mengubah permeabilitas membran sel bakteri lain dan menyebabkan lisis. Bakteri gram positif memiliki membran sel yang cenderung sederhana daripada bakteri gram negative. Menurut Halim *et al.*, (2013), mekanisme antimikroba yang disebabkan oleh asam organik yang dihasilkan isolat BAL yaitu dengan penurunan pH yang diiringi dengan bentuk tidak terdisosiasi dari molekul. 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.

Berdasarkan hasil nilai zona hambat isolat BAL menunjukkan bahwa isolat dari perlakuan E (E3a4) menghasilkan nilai zona hambat tertinggi, yaitu  $4,10 \pm 0,360^b$ , sedangkan zona hambat terkecil diperoleh dari isolat perlakuan A (A2b3) yaitu  $2,55 \pm 0,229^a$ . Rentang nilai zona hambat isolat berkisar antara asal perlakuan A diperoleh  $2,55 \pm 0,229^a$  -  $3,25 \pm 0,435^{ab}$ , perlakuan B diperoleh  $3,05 \pm 0,626^{ab}$  dan  $3,16 \pm 0,152^{ab}$ ,

perlakuan C diperoleh  $3,06 \pm 0,602^{ab}$  dan  $3,51 \pm 0,660^{ab}$  perlakuan D diperoleh  $3,20 \pm 0,200^{ab}$  dan  $3,66 \pm 0,351^{ab}$  serta perlakuan E diperoleh  $3,51 \pm 0,448^{ab}$  -  $4,10 \pm 0,360^b$ . Secara statistik nilai tersebut tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap zona hambat yang terbentuk. Nilai zona hambat bakteri terdapat pada kategori lemah yaitu kurang dari 5 mm. Menurut Suryawiria (1978), aktivitas antibakteri dapat digolongkan berdasarkan besarnya zona hambat yang terbentuk antara lain diameter zona hambat < 5 mm termasuk kategori lemah, 5 – 10 mm kategori sedang, 10 – 20 mm kategori kuat, dan > 20 mm kategori sangat kuat. Zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jumlah zat antimikroba pada sampel. Hal ini diperkuat oleh Purwanto *et al.* (2015), besaran diameter zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh tinggi rendahnya senyawa atau zat aktif yang terkandung di dalam fraksi tersebut. Tinggi rendahnya suatu konsentrasi yang digunakan tergantung pada jumlah kandungan bahan aktif yang terdapat di dalam bahan penelitian tersebut.

Besar nilai zona hambat bakteri asam laktat asal rusip terhadap *Staphylococcus aureus* berbeda dengan zona hambat bakteri asam laktat asal produk fermentasi lainnya. Pada penelitian Rohman (2019), isolat BAL asal bekasam dengan konsentrasi garam berbeda memiliki rentang nilai zona hambat sebesar 3,45 mm – 7,78 mm dan penelitian ikan peda kembung dengan konsentrasi garam yang berbeda menurut Siswanto *et al.*, (2017) menunjukkan rentang nilai antara 2,8 mm – 4,5 mm. Antibakteri yang dihasilkan oleh rusip termasuk kedalam bakteriostatik yaitu bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Menurut Kiti *et al.*, (2018), menyatakan asam laktat merupakan salah satu senyawa inhibitor yang dihasilkan BAL dan merupakan produk akhir utama dari katabolisme karbohidrat, karena dari proses konversi sumber karbon ini dihasilkan setidaknya 50% asam laktat, sehingga kelompok bakteri ini dinamakan bakteri asam laktat.

#### **KESIMPULAN**

Fermentasi rusip ikan teri selama 7 hari menghasilkan konsentrasi terbaik yaitu 10% dengan nilai pH 6,5, nilai  $a_w$  0,77 dan TPC BAL  $2,4 \times 10^5$  cfu/g. Isolat BAL yang diperoleh sebanyak 15 isolat, yaitu 4 isolat dari perlakuan penambahan gula aren cair 5%, 2 isolat dari perlakuan penambahan gula aren cair 7,5%, 2 isolat dari perlakuan penambahan gula aren cair 10%, 4 isolat dari perlakuan penambahan gula aren cair 12,5% dan 4 isolat dari perlakuan penambahan gula aren cair 15% dengan bentuk sel bulat (coccus). Nilai zona hambat isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tidak berbeda nyata pada beberapa perlakuan ( $P > 5\%$ ).

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. The Association of Official Analytical and Chemist. 16th edition. Arlington, Virginia, USA. AOAC Inc.
- Bergey, D. H., Krieg, N. R dan Holt, J. G. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Vol 3. Williams & Wilkins. Baltimore, USA.
- Buckle, K. A., Edward, R. A., Fleet, G. H dan Wootton. 2007. *Food Science* (Ilmu Pangan, diterjemahkan oleh H. Purnomo dan Adiono). Edisi ke 4. UI-Press. Jakarta.
- Budin, G., Chung, H. J., Lee, H dan Weissleder, R. 2012. A 'Magnetic' Gram Stain for Bacterial Detection. *Angew Chem Int Ed Engl*, 51 (31):7752–7755.
- Chartier, M. P. C dan Kulakauskas, S. 2014. Cell Wall Structure and Function in Lactic Acid Bacteria. *Microbial Cell Factories*, 13(1):1–23.
- Das, A. J., Das, M. J., Miyaji, T dan Deka, S. C. 2019. Growth and Metabolic Characterization of Four Lactic Acid Bacteria Species Isolated from Rice Beer Prepared in Assam, India. *Access Microbiology*, 1:1–14.
- Desniar, D., Rusmana, I., Suwanto, A dan Mubarik, N. R. 2012. Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*, 3(2):135–145.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Giyatmi dan Irianto, H. E. 2017. Enzymes in Fermented Fish. Chapter ten. *Advances in Food and Nutrition Research*, 80:199–216.
- Hafsan. 2014. Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat Sebagai Biopreservatif Pangan. *Jurnal Teknosains*, 8(2):175–184.
- Halim, C. N dan Zubaidah, E. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1):129–137.
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A dan Maneerat, S. 2011. Isolation and Screening of Lactic Acid Bacteria from Thai Traditional Fermented Fish (Plasom) and Production of Plasom from Selected Strains. *Food Control*, 3(4):401–407.
- Ijabadeniyi, O. A dan Pillay, Y. 2017. Microbial Safety of Low Water Activity Foods: Study of Simulated and Durban Household Samples. *Journal of Food Quality*, 1–7.
- Ismail Y. S., Yulvizar, C dan Mazhitov, B. 2018. Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 130:1–8.

- Kiti, A. A., Jamilah, I dan Rusmarilin, H. 2018. Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Pangan Pliek U terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan Khamir *Candida albicans* secara in Vitro. *Journal of Healthcare Technology and Medicine* 4(1):118–126.
- Kusmawarti, A., Arief, F. R dan Haryati, S. 2014. Eksplorasi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Rusip Bangka Dan Kalimantan. *JPB Perikanan*, 9(1):29–40.
- Koesoemawardani, D. 2007. Analisis Sensori Rusip dari Sungailiat-Bangka. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*, 12(2):36–39.
- Koesoemawardani, D dan Ali, M. 2016. Rusip Dengan Penambahan Alginat Sebagai Bumbu. *JPHPI*. 19(3):277–287.
- Kopermsub, P dan Yunchalard, S. 2010. Identification of Lactic Acid Bacteria Associated with The Production of Plaa-som, A Traditional Fermented Fish Product of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 138:200–204.
- Leviana, W dan Paamita, V. 2017. Pengaruh Suhu Terhadap Kadar Air Dan Aktivitas Air dalam Bahan Pada Kunyit (*Curcuma Longa*) dengan Alat Pengereng Electrical Oven. *Metana*, 13(2):37–44.
- Menconi, A., Kallapura, G., Latorre, J. D., Morgan, M. J, Pumford, N. R., Hargis, B. M dan Tellez, G. 2014. Identification and Characterizaion of Lactic Acid Bacteroa in A Commercial Probiotic Culture. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 33(1):25–30.
- Muchtadi, R.T dan Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan*. Penerbit Alfabeta. Bogor.
- Nehemya, D., Lubis, L. M dan Nainggolan, R. J. 2017. Pengaruh Konsentrasi Gula Merah dan Konsentrasi Starter Terhadap Mutu Minuman Sinbiotik Sari Buah Sukun. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 5(2):275–283.
- Olympia, M., Ono, H, Shinmyo, A dan Takano, M. 1992. Lactic Acid Bacteria in A Fermented Fishery Product, “Burong Bangus”. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73(3):193–197.
- Papadimitriou, K., Alegria, A dan Bron, P. A. 2016. Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3):837–890.
- Purwanto, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2(2):84–92.
- Puspitasari, F. D., Shovitri, M dan Kuswytasari, N. D. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 1(1):1–4.
- Putri, D. M., Budiharjo, A dan Kusdiyantini, E. 2014. Isolasi, Karakterisasi Bakteri Asam Laktat, dan Analisis Proksimat dari Pangan Fermentasi Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Biologi*, 3(2):11–19.
- Rault, A., Bouix, M dan Beal, C. 2009. Fermentation pH Influences the Physiological-State Dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-Controlled Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(913):4374–4381.
- Rinto, A. D. S dan Fitria, K. 2012. Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat Ikan Nila Dan Tongkol Terhadap Bakteri Merugikan Produk Perikanan. *JPHPI*, 15(2):94–100.
- Rohman, N., Sumardianto dan Romadhon. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diproses dengan Kadar Garam yang Berbeda. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Romadhon, Subagiyo dan Margino, S. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1):59–64.
- Schillinger, U dan Holzapfel, W. H. 2006. Lactic Acid Bacteria In *Food Spoilage Microorganism*. Woodhead Publishing Limited. USA.
- Serrazanetti, D. I., Gottardi, D., Montanari, C dan Gianotti, C. 2013. *Dynamic Stresses of Lactic Acid Bacteria Associated to Fermentation Processes In Lactic Acid Bacteria*. R & D for Food, Health and Livestock Purposes. Penyunting: J.M. Konngo. Intech Open. United Kingdom.
- Siswanto, A., Sumardianto dan Romadhon. 2017. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Garam Pada Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger* sp.) Terhadap Jumlah Bakteri Penghasil Asam Sebagai Penghambat Pertumbuha *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JPHPI*, 6(2):17–23.
- Suryawiria, U. 1978. *Mikroba Lingkungan*. Edisi kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Susanto, A. 2009. Uji Korelasi Kadar Air, Kadar Abu, Water activity dan Bahan Organik pada Jagung di Tingkat Petani, Pedagang pengumpul dan Pedagang Besar. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Susilowati, R., Koesoemawardani, D dan Rizal, S. 2014. Profil Proses Fermentasi Rusip dengan

***Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan  
Volume 2 No 1 (2020)***

Penambahan Gula Aren Cair. *JTIHP*,  
19(2):137–148.  
Widyadnyana, D. G. A., Sukrama, I. D. M dan  
Suardana, I. W. 2015. Identifikasi Bakteri

Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali  
sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S  
rRNA. *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2):228–  
233.