UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI BEKASAM IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) TERHADAP *Escherecia coli* DAN *Streptococcus* sp.

(Skripsi)

Oleh:

Nur Rohman

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI BEKASAM IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) TERHADAP *Escherecia coli* DAN *Streptococcus* sp.

Oleh
Nur Rohman

Bekasam merupakan salah satu produk fermentasi ikan secara tradisional yang memiliki rasa asam dan banyak dikenal di berbagai daerah di Indonesia. Proses fermentasi yang terjadi pada bekasam dibantu oleh adanya Bakteri Asam Laktat (BAL). Dalam metabolismenya BAL menghasilkan asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, CO_2 dan bakteriosin. Senyawa tersebut merupakan senyawa antimikroba yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Rancangan penelitian yang digunakan bersifat deskriptif dan bertujuan mengetahui aktivitas dari antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus)* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. Data dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan data dalam bentuk tabel dan gambar. Hasil penelitian didapatkan 9 isolat BAL dari bekasam ikan patin yang selanjutnya diproduksi antibakterinya. Seluruh isolat menunjukkan hasil positif saat diuji antibakteri terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp baik dalam kondisi asam ataupun telah dinetralkan. Pada *Escherecia coli* dalam kondisi asam luas zona hambat B1-B9 berturut-turut adalah 5,4 ; 6,6 ; 5,3 ; 8,3 ; 5,2 ; 4,7 ; 3,9 ; 6,6 ; 4,4. Dalam kondisi netral zona hambat B1-B9 berturut-turut adalah 2,2 ; 2,5 ; 2,2 ; 2,4 ; 1,9 ; 1,4 ; 1,7 ; 1,9 ; 1,8. Sementara pada *Streptococcus* sp dalam kondisi asam luas zona hambat B1-B9 berturut-turut adalah 5,2 ; 3,0 ; 4,2 ; 4,3 ; 3,9 ; 3,6 ; 3,2 ; 3,7 ; 4,1. Dalam kondisi netral zona hambat B1-B9 berturut-turut adalah 1,2 ; 1,0 ; 1,8 ; 1,7 ; 1,2 ; 1,4 ; 0,8 ; 1,6 ; 1,5. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri BAL menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji baik dalam kondisi asam maupun setelah dinetralkan.

Kata kunci: Bekasam, Bakteri Asam Laktat (BAL), Antibakteri

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI BEKASAM IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) TERHADAP *Escherecia coli* DAN *Streptococcus* sp.

Oleh

Nur Rohman

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Penmgetahuan Alam

UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017

Judul Skripsi	:	**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI BEKASAM IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) TERHADAP *Escherecia coli* DAN *Streptococcus* sp.**
Nama Mahasiswa	:	Nur Rohman
No. Pokok Mahasiswa	:	1317021057
Jurusan	:	Biologi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Dra. C.N. Ekowati, M.Si.	**Ir. Salman Farisi, M.Si.**
NIP 19580818 198503 2 001	NIP 19610418198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

   Ketua : **Dra. C.N. Ekowati, M.Si.** .....

   Sekretaris : **Ir. Salman Farisi, M.Si.** .....

   Penguji
   Bukan Pembimbing : **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.** .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.
NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **18 Agustus 2017**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bumi Daya, Kec. Palas, Kab. Lampung Selatan 22 tahun silam pada tanggal 29 Maret 1995 sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari Bapak Riyanto dan Ibu Utami.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 03 Bumi Daya dan menyelesaikannya tahun 2007, pendidikan tingkat menengah hingga tahun 2010 di SMP PGRI 02 Palas. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 01 Kalianda dan menyelesaikannya tahun 2013. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di kampus penulis pernah menjadi juara I Olimpiade Sains Nasional (OSN) Pertamina bidang Biologi Tahun 2016 dan mewakili Universitas Lampung dalam Olimpiade Nasional (ON) MIPA bidang Biologi tingkat Regional SumBagSel pada tahun 2015. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi Umum, Fisiologi Mikroba dan Mikrobiologi Lingkungan. Selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus. Aktifitas organisasi penulis dimulai sejak menjadi Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2013-2014.

Selanjutnya Penulis aktif di Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila sebagai anggota Departemen Kebijakan Publik tahun 2014. Penulis juga aktif di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila sebagai anggota biro Dana dan Usaha tahun 2014-2015. Penulis juga menjadi kepala Biro Usaha dan Pendanaan (UDP) tahun 2015. Terakhir penulis menjadi Wakil Ketua Umum Himbio FMIPA Universitas Lampung tahun 2015–2016.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT, Dzat yang maha agung yang memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan, dengan mengharap Ridho dan Magfiroh dari Allah SWT maka karya ini ku persembahkan kepada :

Bapak dan Ibu yang selalu kusayangi, yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tak putus-putusnya, memberikan dukungan moril dan materil, menjadi teladan yang baik bagi pribadi ini, serta menjadi pengajar sepanjang hayatku.

Adiku yang selama ini membuat hari-hariku menjadi lebih berwarna dan terus memotivasiku untuk berkarya dan menuntaskan studiku

Para guru dan dosen yang telah medidik dan mengajariku hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasanya

Sahabat-sahabatku, rekan-rekan seperjuanganku yang selalu menjadi penyemangat, yang banyak memberikan pengalaman berharga, yang selalu menguatkan dan mengajarkan arti perjuangan serta persaudaraan.

Almamaterku tercinta.

Motto

"Raih Hasil Terbaik dengan Perjuangan Terbaik"

"Isyhadu bi Anna Muslim"

"Manusia yang paling dicintai Allah adalah yang paling bermanfaat untuk sesama" (HR. Thabrani)

SANWACANA

Segala puji hanya milik Allah S.W.T atas limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya , limpahan Karunia serta limpahan Nikmat-Nya yang tak terhitung hingga hari ini penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul

"Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Bekasam Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.".

Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, *Aamiin.*

Teriring doa nan ikhlas *jazaakumullah khaiiran katsir,* penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, saran, dan motivasi dalam membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku pembimbing kedua atas dedikasi, arahan, saran dan semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku Pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
4. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D, selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
5. Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selam penulis melakukan penelitian.
6. Dekan FMIPA Universitas Lampung dan Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
7. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
8. Syukur penulis dan doa *jazakumullah khaiiran katsir* Bapak Riyanto dan Ibu Utami yang telah memberikan kasih sayang, semangat, perhatian, dukungan, dan do'a kepada penulis yang tiada hentinya. Semoga Allah membalas dengan *jannah*-Nya kelak. *Aamiin ya Rabbal Alamiin*
9. Adikku Rini Dwi Rahayu yang memberikan keceriaan dan dukungan sepanjang hari-hari penulis hingga penulis bisa menyelesaiikan skripsi ini.
10. Rekan kerja penelitian Bella Rizcikal, Bella Noor, Balqis Ananda, dan Nailul Luthfiyah. Terimakasih atas semangat, dukungan, canda tawa, pelajaran, ilmu dan semua pertolongan selama penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

11. Sahabat dan rekan-rekan penulis yaitu Purwo Kuncoro, Yuliansyah Adjitama, Ma'arif Aziz, Carina Pertiwi, Eva Octarianita, Fatmawati Putri, Tetania Tiara, I Nyoman Hitakarana, Terimakasih atas segala keceriaan, dukungan, dan kebersamaan selama penulis menyelesaikan perkuliahan.
12. Rekan-rekan Angkatan 29 Ambalan Raden Intan Cut Nyak Dien Wynne Ardelia, Putri Lepia Canita, Mitha Laksmi, Ayu Pratiwi, Siti Siprehatin, Novita, Bintang Helau, Doni Adriansyah atas semangat dan persahabatan yang diberikan
13. Rekan-rekan Microholic 2013 : Sarah Niati, Yovita Selvie, Nuraini Prija, Hendra Verry, Lina Linda, Dea Putri, Hafiz Auzar, dan Rizani Oktanisyah atas segala canda tawa, dukungan dan pembalajaran di Laboraturium Mikrobiologi
14. Kakak- kakak Microholic 2011 dan 2012 : Mbak Maria, Mbak Edel, Mbak Riska, Mbak Mardha, Mbak Cendana, Mbak Wida, Mbak Wayan, Mbak Meri dan adik-adik Michroholic 2014 : Agung, Rosmaida, Ketut, Diana, Gena, Noe, Zulfa, Benny,Risma, Komang terimakasih atas ilmu serta bantuan yang diberikan
15. Teman-teman Biologi 2013 Benny, Aji, Nasya, Vozza, Venny, Nungki, Ade Safitri, Bella Friscilla, Indria, Damai, Retno, Siska, Fhora, Upi, Sally, Ellia, Muna, Silvia, Iffa, Winda, Okta, Anis, Sita, Sari, Sabti, Dewi, Ayu, Neria, Harnes, Nadia, Siti Mei, Alfian, Alfi, Agung terimakasih atas dukungan dan semangat yang sudah diberikan kepada penulis.

16. Kakak tingkat 2009, 2010, 2011, 2012 serta adik-adik angkatan 2014, 2015, dan 2016 yang selalu memberikan semangat dan dukungan saat proses perkuliahan kepada penulis.
17. Almamater tercinta

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan kesalahan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan penulisan di masa datang. Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi banyak pihak.

Bandar Lampung, Agustus 2017

Penulis

Nur Rohman

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN

ABSTRAK

I. PENDAHULUAN

A. LatarBelakang 1
B. Tujuan Penelitian 3
C. ManfaatPenelitian 4
D. Kerangka Pikir 4
E. Hipotesis 6

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biologi Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) 7
B. Fermentasi 9
C. Bekasam 10
D. Bakteri Asam Laktat 13
E. Senyawa Antibakteri 15
F. *Streptococcus* sp 19
G. *Escherichia coli* 20

III. METODE KERJA

A. Waktu danTempat 21
B. Alat dab Bahan 21
C. Metode Penelitian 22
D. Prosedur Kerja 22
E. Analisis Data 25
F. Diagram Alir Penelitian 26

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Secara Morfologi dan Fisiologi 28
B. Perubahan pH Media pada Produksi Antibakteri BAL 30

C. Indeks Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. 31
D. Indeks Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL dalam Kondisi Asam dan Netral. 36

KESIMPULAN DAN SARAN

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) 9

Tabel 2. Morfologi Koloni BAL dari Bekasam Ikan Patin 28

Tabel 3. Morfologi Sel BAL dari Bekasam Ikan Patin 29

Tabel 4. Perubahan pH Media pada Produksi Antibakteri BAL 30

Tabel 5. Indeks Daya Hambat Antibakteri terhadap *Escherecia coli*..... 33

Tabel 6. Indeks Daya Hambat Antibakteri terhadap *Streptococcus* sp. 33

Tabel 7. Indeks Daya Hambat Antibakteri dalam Kondisi Asam. 37

Tabel 7. Indeks Daya Hambat Antibakteri dalam Kondisi Netral..... 38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Ikan Patin..... 8

Gambar 2. Metode Difusi Sumur 24

Gambar 3. Diagram Alir Proses Isolasi dan Identifikasi BAL Bekasam 26

Gambar 4. Diagram Alir Uji Antibakteri BAL terhadap *Eschericia coli* dan *Streptococcus* sp. 27

Gambar 5. Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL terhadap *Eschericia coli* 32

Gambar 6. Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL terhadap *Streptococcus sp* . 32

Gambar 7. Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL dalam Kondisi Asam 36

Gambar 8. Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL dalam Kondisi Netral..... 37

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bekasam merupakan salah satu produk fermentasi ikan secara tradisional yang memiliki rasa asam dan banyak dikenal di berbagai daerah di Indonesia, terutama di JawaTengah dan Sumatera Selatan. Bekasam adalah hasil proses fermentasi ikan yang digolongkan sebagai olahan yang menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan mencegah pembusukan pada ikan dengan penggaraman. Dalam proses fermentasi juga digunakan nasi sebagai sumber energi mikroorganisme. Proses pembuatan bekasam sampai saat ini masih dilakukan secara tradisional dengan menerapkan fermentasi spontan, yaitu menggunakan peran bakteri dalam proses fermentasinya. Pertumbuhan bakteri dirangsang dengan penambahan garam dan sumber karbohidrat dalam kondisi anaerobik (Puspita, 2011).

Penambahan karbohidrat bertujuan untuk merangsang pertumbuhan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat akan menguraikan karbohidrat menjadi senyawa sederhana, kemudian disintesis membentuk senyawa asam laktat, asam asetat, asam propionat dan etil alkohol. Senyawa-senyawa ini berguna sebagai pengawet dan pemberi rasa asam pada produk bekasam (Nuraini et al., 2014).

Proses Penggaraman dalam pembuatan bekasam dapat menghambat bahkan menghentikan pertumbuhan mikroorganisme khususnya mikroorganisme yang tidak tahan terhadap kadar garam tinggi. Penambahan garam membuat bakteri yangada terseleksi. Bakteri yang toleran terhadap garam akan bertahan sedangkan bakteri yang tidak tahan garam akan mati. Sebagian besar bakteri yang menyebabkan pembusukan tidak tahan terhadap kadar garam yang tinggi (Agustini, 2010).

Bakteri yang tumbuh pada proses fermentasi bekasam didominasi BAL, Setiap bahan berbeda yang digunakan dalam proses pembuatan bekasam akan menghasilkan variasi BAL yang berbeda. Berdasarkan hasil penelitian Candra (2006) dari produk bekasam yang menggunakan bahan dasar ikan bandeng didapatkan 5 isolat murni BAL yang dibedakan berdasarkan perbedaaan morfologi koloninya. Sementara hasil penelitian Desniar et. al (2013) dari produk bekasam yang menggunakan bahan dasar ikan mas didapatkan 29 isolat murni BAL.

Menurut Yang et al., (2012) dalam metabolismenya, bakteri asam laktat menghasilkan asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, CO_2 dan bakteriosin. Senyawa –senyawa tersebut bersifat antimikroba yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Oleh karena itu, BAL sering digunakan sebagai agen probiotik dan biopreservasi yang bermanfaat untuk kesehatan (Kusmiati et al., 2002)

Dari penelitian yang dilakukan oleh Puspita (2011) menyebutkan bahwa BAL dari bekasam yang menggunakan bahan dasar ikan seluang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan yaitu *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium.* Sementara dari hasil penelitian Purnama (2011) menyebutkan bahwa BAL dari bekasam ikan nila mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*.

Selain ikan seluang dan ikan nila sebagai bahan dasar bekasam yaitu ikan patin. Ikan patin memiliki kandungan bahan yang berbeda dengan ikan nila, ikanseluang, ikan bandeng dan ikan air tawar pada umumnya.Hal ini merupakan media yang berbeda dan spesifik untuk pertumbuhan bakteri. Demikian pula jenis BAL yang mendominasi bekasam ikan patin berbeda. Informasi tentang hal tersebut belum diketahui secara jelas. Demikian juga kemampuannya dalam menghambat bakteri komensal baik yang bersifat Gram positif maupun Gram negatif belum diketahui.

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus)* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.

C. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai karakteristik isolat bakteri asam laktat yang berasal dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus)* serta potensi isolat tersebut sebagai penghasil antibakteri yang menghambat bakteri uji *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. yang bersifat patogenik.

D. Kerangka Pemikian

Penggaraman yang dilakukan dalam pembuatan bekasam membuat bakteri yang tidak toleran terhadap kadar garam tinggi akan mati, sedangkan bakteri yang toleran terhadap kadar garam tinggi akan tetap hidup. Selama proses fermentasi terjadi peningkatan asam pada bekasam sebagai hasil metabolisme dari BAL yang membuat bakteri yang tidak tahan asam akan terhambat dan mati. Selain asam yang dihasilkan BAL dari bekasam, BAL juga menghasilkan senyawa non asam yaitu bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang diekskresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain.

BAL dari ikan seluang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium.* Sementara BAL bekasam ikan nila mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes,* dan *Escherichia coli, Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*.

Pada dasarnya setiap bahan yang digunakan untuk membuat bahan bekasam yaitu ikan nila, ikan bandeng, ikan seluang maupun ikan patin memiliki persamaan kandungan senyawa penyusun yaitu protein, lemak, karbohidrat dan kadar air yang tinggi. Hal ini memungkinkan pada fermentasi bekasam ikan patin juga didominasi BAL.

Ikan seluang memiliki kandungan senyawa yang berbeda dengan ikan nila sehingga ditemukan perbedaan variasi jenis BALyang ditemukan. Ikan seluang memiliki kandungan yaitu air 78,07 %, karbohidrat 5,3 gram, lemak 2,38 %, dan protein 10,39 % ditemukan 3 isolat BAL (Utami et al., 2016). Ikan nila memiliki kandungan yaitu air 77,80 %, lemak 2,70%, dan protein 17,80% ditemukan 1 isolat BAL(Putri et. al.,2012). Ikan patin memiliki kandungan yaitu air 82,22 %, karbohidrat 2,53%. lemak 1,09%, dan protein 14,53% (Maghfiroh, 2000).

Perbedaan kandungan pada ikan patin memungkinkan variasi jenis BAL yang berbeda. Masing-masing isolat menghasilkan senyawa antibakteri yang berbeda. Senyawa antibakteri dapat berupa asam organik, alkohol, hidrogen peroksida, bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein. Perbedaan senyawa antibakteri memiliki daya hambat yang berbeda terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Struktur sel Gram positif berbeda dengan Gram negatif, hal ini menyebabkan respon terhadap zat antibakteri tidak sama.

E. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah antibakteri yang dihasilkan dari isolat bakteri asam laktat dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus)* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.

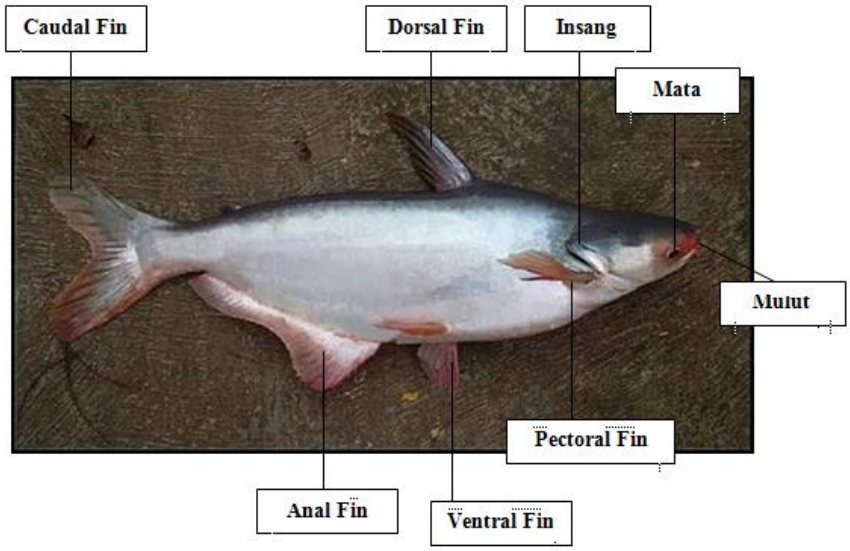
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biologi Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin memiliki spesies yang cukup banyak. Ikan yang memiliki nama ilmiah *Pangasius* di Indonesia terdiri atas *Pangasius pangasius* atau *Pangasius djambal*, *Pangasius humeralis*, *Pangasius lithostoma*, *Pangasius macronema*, *Pangasius micronemus*, *Pangasius nasutus*, *Pangasius niewenhuisii*, dan *Pangasius polyuranodom*. Jenis-jenis tersebut merupakan ikan atau spesies asli (*indigenous species*) yang berada di perairan umum Indonesia. Jenis *Pangasius sutchi* dan *Pangasius hypophthalmus* yang dikenal dengan jambal siam, patin siam, atau lele Bangkok merupakan ikan introduksi dari Thailand (Kordi, 2010).

Ikan patin siam memiliki tubuh yang memanjang dan berwarna putih Keperak – perakandengan punggung berwarna kebiru-biruan. Tubuh ikan inimemiliki panjang hingga mencapai 120cm, bentuk kepala yang relatif kecil, mulut terletak di ujung kepalabagian bawah, pada kedua sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis yang berfungsi sebagai alat peraba yang merupakan ciri khas ikan golongan *catfish*, danmemiliki sirip ekor berbentuk cagak dan simetris (Djariah, 2001).

Morfologi ikan patin (*Pangasius hypophthalmus)* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Ikan Patin

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Menurut Herwono (2001), kedudukan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Pisces

Bangsa : Ostoriophisi

Suku : Schilbeidae

Marga : *Pangasius*

Jenis :*Pangasius hypophthalmus*

Komposisi yang ada dalam ikan patin didominasi oleh daging memiliki total 49% dari total berat ikan keseluruhan, sedangkan komposisi lain yaitu kulit,

tulang, kepala, isi perut, dan gelembung renang. Komposisi kimia yang ada dalam ikan patin menurut Maghfiroh (2000) disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Patin

Komposisi	Kadar %
Air	82,22
Abu	0,74
Protein	14,53
Lemak	1,09
Karbohidrat	1,43

B. Fermentasi

Menurut Jay et al., (2005), fermentasi adalah proses perubahan kimiawi, dari senyawa karbohidrat menjadi asam organik, alkohol, dan H_2O_2 dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Proses fermentasi akan menyebabkanterjadinya penguraian senyawa- senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi pemecahansubstrat menjadi produk baru oleh mikroba (Madigan et al., 2011).Proses fermentasi dimulai dari jalur glikolisis yang menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat akan dikatalisis oleh enzim asam dehidrogenase dan direduksi NADH untuk menghasilkan ATP dan asam (Pelaez dan Orue 2010).Senyawa organik berupa asam laktat dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat.

Hasil fermentasi dipengaruhi oleh antaralain :

1. **Jenis mikroba,** akan menentukan jenis enzim yang berperan dalam proses fermentasi. Dalam hal ini jenis enzim menentukan jalur glikolisis yang terjadi.
2. **Jenis substrat,** komposisi substrat sangat berperan dalam menentukan hasil fermntasi.Substrat merupakan sumber energi dan donor elektron dan hidrogen. Disamping itu substrat juga mengandung berbagai unsur yang dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor dalam reaksi .
3. **Faktor lingkungan,** aktivitas seluler sangat dipengaruhi oleh faktor luar antara lain pH, suhu, tekanan osmosis, oksigen. pH dan suhu sangat menentukan aktivitas enzim. Setiap jenis enzim memerlukan pH dan suhu optimum untuk melaksanakan reaksi. Tekanan osmosis lebih diperlukan dalam mekanisme pengambilan substrat oleh sel. Kebutuhan oksigen dalam setiap fermentasi berbeda-beda, tergantung jenis mikrobanya dan produk fermentasi yang diharapakan. Oksigen lebih diperlukan sebagai aseptor hidrogen terminal dalam kehidupan sel (Ray, 2004).

C. Bekasam

Bekasam merupakan produk fermentasi ikan yang rasanya asam.Bekasam merupakan hasil atau produk fermentasi secara tradisional yang dibuat dari ikan air tawar(Suyatno et al., 2015).

Pada umumnya produk bekasam dibuat dengan mencampurkan ikan, nasi, dan garam dalam wadah tertutup dan selanjutnya dilakukan proses fermentasi padasuhu ruang antara 5 sampai 7 hari. Bekasam yang dihasilkan mempunyaikarakteristik daging ikan seperti ikan segar dengan daging ikan yang semakinkenyal, rasa asam asin khas bekasam dengan aroma tertentu. Bekasam hampirserupa dengan beberapa produk fermentasi ikan yang dijumpai di beberapanegara lainnya seperti, burong isda, burong bangus (Filipina), pla-ra, pla-chom, som-fak (Thailand), heshiko, dan nakazuke (Jepang). Pada dasarnya pembuatan bekasam adalah salah satu upaya pengolahan ikan dengan memanfaatkan bakteri asam laktat (Wikandari, 2012)

Cara membuat bekasam itu sendiri sangatlah mudah. Pertama-tama, kepala ikan dibuang, dan bersihkan sisik serta isi perutnya. Kemudian ikan dibelah menjadi bentuk kupu-kupu dan dicuci. Ikan yang telah dicuci selanjutnya ditaburi sedikit garam untuk mengawetkannya dan ditambahkan nasi dengan perbandingan 1 : 1 atau 1 : 2 dengan ikan yang akan dibuat bekasam. Campuran tersebut sedikit dirapatkan kemudian disusun dengan rapi di dalam toples untuk disimpan atau difermentasi sesuai keinginan (Suyatno et al., 2015)Metoda ini akan menghasilkan proses penetrasi garam ke dalam daging ikanyang lebih cepat. Garam yang digunakan sebaiknya tidak lebih dari 20% dariberat ikan,kadar asam laktat bekasam meningkat tajam pada fermentasi minggukedua dan kemudian cenderung menurun (Suyatno et al., 2015).

Keasaman yang terjadi dari tiap hari proses fermentasi yang semakin lama maka akan semakin meningkat. Proses fermentasi asam laktat membutuhkan keadaan yang anaerob dan diawali dengan proses glikolisis karbohidrat yang menghasilkan asam piruvat, proses selanjutnya adalah perubahan asam piruvat menjadi asam laktat (Irpan, 2014).

Menurut Vonistara (2010) faktor-faktor yang mempengaruhi pembuatan bekasam antara lain :

1. Bahan baku

   Faktorkeberhasilandalampembuatanbekasamsangatditentukanolehkesegaran bahan, dalamhalinikesegaranikan yang dijadikanbekasam

2. Lama fermentasi

   Selama proses fermentasi asam amino akan mengalami peningkatan akibat adanya pemecahan protein, yang mana kandungan asam amino yang tinggi akan mempengaruhi cita rasa. Mikroorganisme diinokulasi pada media, pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk. Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri waktu ini berkisar antara 10 –60 menit.

3. Konsentrasi garam

   Konsentrasi garam yang dianjurkan adalah 5-15%. Prinsip kerja garam dalam proses fermentasi adalah untuk mengatur ketersediaan air untuk kebutuhan mikroorganisme. Mikroorganisme yang diinginkan untuk tumbuh adalah jenis-jenis bakteri penghasil asam. Kadar garam selama fermentasi akan berubah karena cairan dalam sel-sel jaringan tertarik keluar sel, karena itu secara periodik harus diadakan penyesuaian kadar garam.

4. Konsentrasi karbohidrat

   Sumber karbohidrat yang ditambahkan dalam pembuatan bekasam akan diuraikan oleh bakteri asam laktat menjadi senyawa-senyawa asam, terutama asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan ini akan menurunkan pH dan menimbulkan rasa asam pada produk bekasam.

D. Bakteri Asam Laktat

Bakteri yang memproduksi asam laktat termasuk ke dalam golongan bakteri Gram-positif, sebagian besar bersifat katalase negatif, tidak membentuk spora, berbentuk batang dan coccus. Golongan bakteri asam laktat ini dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen (Fauzan, 2009).

Berdasarkan produk akhir dari metabolisme glukosa, bakteri asam laktat dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat yang termasuk homofermentatif dapat mengubah 95 % dari glukosa atau heksosa lainnya menjadi asam laktat.

Karbondioksida dan asam asam volatil lainnya juga dihasilkan, tetapi dalam jumlah sedikit. Beberapa contoh bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif adalah *Streptococcus, Pediococcus, Aerococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus*.Pada bakteri heterofermentatif, bakteri asam laktat jugamemproduksi asam asetat dan sebagian asam propionat dalam jumlah besar. (Theron dan Lues 2011).

Proses fermentasi asam laktat dimulai dari jalur glikolisis yang menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat yang terdegradasi dikatalisis oleh enzim asam dehidrogenase dan direduksi NADH untuk menghasilkan ATP dan asam laktat (Pelaez dan Orue, 2010).

Bakteri asam laktat heterofermentatif mengubah glukosa dan heksosa lainnya menjadi asam laktat, etanol, asam asetat, asam format dan CO dalam jumlah yang hampir sama. Beberapa contoh bakteri asam laktat heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus*. Bakteri heterofermentatif tidak mempunyai enzim fruktosadifosfat aldolase, transaldolase dan transketolase yang berperan dalam tahap glikolisis. Bakteri homofermentatif dapat menghasilkan energi sebesar dua kali energi yang dihasilkan oleh bakteri heterofermentatif dari sejumlah substrat yang sama (Moat et al., 2002).Bakteri asam laktat yang banyak terdapat pada bekasam adalah Lactobacillus coryneformis, Lactobacillus spp., Lactobacillus spp., Pediococcus sp.(Sugiyono et al. 1999).

Sejauh ini telah diketahui bahwa keberadaan bakteri asam laktat tidak bersifat patogen dan aman bagi kesehatan sehingga sering digunakan dalam industri pengawetan makanan, minuman dan berpotensi sebagai produk probiotik. Beberapa kriteria penting untuk karakter fisiologi yang merupakan seleksi kelayakan bakteri sebagai produk probiotik antara lain uji pertumbuhan/resistensi bakteri probiotik pada pH rendah (Hardiningsih et al. 2005).

BAL dapat berfungsi sebagai pengawet makanan karena mampu memproduksi asam organik, menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H, diasetil, CO, asetaldehid, d-isomer asam-asam amino dan bakteriosin (Kusmiati, 2002).

E. Senyawa Antibakteri

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-senyawatertentu selain asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapatmenghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa-senyawa tersebutdiantaranya H2O, diasetil dan bakteriosin dalam jumlah yang relatif sedikit dibandingkandengan produksi asam organik (Kusmiati, 2002).

i. Asam laktat

Asam laktat merupakan molekul yang larut dalam air. Mekanisme antimikroba asam laktat berdasarkan pada teori chemiosmotic dan pHhomeostasis. Ketika asam laktat yang diproduksi disekresikan ke lingkungan,beberapa molekul terdisosiasi menjadi H+ dan anion, sementara yang lain tidakterdisosiasi. Salah satu faktor yang berperanan terhadap terdisosiasi atau tidaknyasuatu molekul adalah pH lingkungan dan pK (tetapan keseimbangan). Hal inimenyebabkan peningkatan proton transmembran yang pada akhirnyamenyebabkan gradien proton. Perbedaan ini menyebabkan proton lebih cepatmasuk ke dalam sel sehingga meningkatkan kebutuhan energi untukmempertahankan pH alkali dalam sel(Ray,2004).

Aktivitas antibakteri dari asam laktat selain memaksa zat antibakteri lainmasuk, juga memiliki perannya tersendiri. Asam yang masuk melalui plasmamembran sel akan terdisosiasi menjadi kation dan anion toksik. Membran sel akanluruh dan menyebabkan transportasi sel terganggu. Selain itu aktivitas air bebas(water activity) dan metabolisme sel seperti glikolisis juga akan terganggu(Theron dan Lues 2011).

Asam laktat mampu melemahkan permeabilitas bakteriGram-negatif dengan merusak membran luar bakteri Gram-negatif. Pelindung daripermeabilitas membran luar berupa lapisan lipopolisakarida yang

terletak padapermukaan membran dirusak oleh asam laktat sehingga substrat antimikroba yanglain yaitu diasetil, bakteriosin, hidrogen peroksida dan laktoperidase sistem dapatberpenetrasi ke dalam membransitoplasma (Alokomi et al. 2000).

ii. Karbon dioksida (CO2)

Karbon dioksida diproduksi terutama oleh BAL heterofermentatif. Karbon dioksida memainkan peranan penting dalam membuat lingkungan anaerobik yangmenghambat enzimatik dekarboksilase, dan akumulasi CO membran lipid bilayerdapat menyebabkan disfungsi permeabilitas. Karbon dioksidasecara efektif dapat menghambat banyakmikroorganisme perusak makanan, terutama bakteri psikrotropik Gram-negatif(Ammor et al.2006).

iii. Hidrogen peroksida (H2O2)

Hidrogen peroksida merupakan prekursor untuk produksi bakterisidal radikal bebas seperti superoksida dan radikal hidroksil (OH) yang dapatmerusak DNA. Hidrogen peroksidadiproduksi oleh bakteri asam laktat sebagai hasil dari aksiflavoprotein oksidase atau nikotinamida adenine dinukleotida (NADH)peroksidase. Efek antimikroba dari adalah hasil dari oksidasi grup sulfhydrylyang menyebabkan denaturasi sejumlah enzim, dan dari peroksidase membranlipid meningkatkan permeabilitas membran (Ammor et al.2006).

iv. Bakteriosin

Bakteriosin adalah senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama yang memilikikekerabatan erat secara filogenik (Kusmiati, 2002). Mekanisme aktivitas bakterisidal bakteriosin adalah sebagai berikut:

(1) molekul bakteriosin kontak langsung dengan membran sel,
(2) proses kontak inimampu mengganggu potensial membran berupa destabilitas membran sitoplasma sehingga sel menjadi tidak kuat,
(3) ketidakstabilan membran mampumemberikan dampak pembentukan lubang atau pori pada membran sel melaluiproses gangguan terhadap PMF (Proton Motive Force) (Usmiati, 2007).

Bakteriosin dapat diproduksi oleh *Lactococcus, Lactobacillus* dan*Pediococcus* yang berasal dari berbagai bahan makanan, misalnya nisindiproduksi oleh *Lactococcus lactis*, pediosin AcH dihasilkan *Pediococcusacidilactic*. Bakteriosin memiliki beberapa kelebihan sehingga potensial digunakan sebagaibiopreservatif. Bakteriosin bukan termasuk bahan toksik dan mudah mengalamidegradasi oleh enzim proteolitik karena merupakan senyawa protein. Bakteriosin juga tidakmembahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim saluranpencernaan. Bakteriosin dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai pengawetpangan. Penggunaan bakteriosin fleksibel dan stabil terhadap pH dan suhu yang cukupluas sehingga tahan terhadap proses pengolahan yang

melibatkan asam dan basa,serta kondisi panas dan dingin (Marwati, 2007).

F. ***Streptococcus sp.***

Streptococcus sp. merupakan floral normal rongga mulut yang memiliki sifat α-hemolitik dan komensal oportunistik (Arora, 2009).
*Streptococcus*sp. merupakan bakteri yang paling penting dalam proses terjadinya karies gigi (Nomura dkk., 2004).

Bakteri ini pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924 yang memiliki kecenderungan berbentuk kokus dengan formasi rantai panjang apabila ditanam pada medium yang diperkaya seperti pada Brain Heart Infusion (BHI) Broth, sedangkan bila ditanam di media agar akan memperlihatkan rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan.
Streptococcus sp. tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob (Gronroos dkk., 1998).

Streptococcus sp. merupakan bakteri gram positf (+), bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 µm, bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora (Manton, 2010).
Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18-40*Streptococcus* sp. biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi

(Ari, 2008).

G. Escherichia coli

Eschericia coli merupakan bakteri Gram-negatif, motil, tidak berspora,berbentuk batang dan anaerobik fakultatif. *E. coli* bersifat aerob atau kualitatifanaerob, dapat tumbuh pada media buatan. Bakteri ini umumnya hidup pada rentang suhu 20-40ºC dengan suhu optimum 37ºC, tumbuh baik pada pH 7,0 tapitumbuh juga pada pH yang lebih tinggi. *E.coli* mengandung enterotoksin dan ataufaktor virulensi lainnya, termasuk invasiveness dan faktor kolonisasi,menyebabkan penyakit diare. *E.coli* juga penyebab utama infeksi urin dan infeksinosomical termasuk septisemia dan meningitis. Dari sekian ratusstrain E.,coli yang teridentifikasi, hanya sebagian kecil yang bersifat patogen(Holt et al. 1994).

*Escherecia coli*merupakan bakteri komensal bersifat patogen penyebabkan gangguan kesehatan pada saluran pencernaan (Tenailon *et al*., 2010). *E. coli* yang berifat patogen dapat mengakibatkan gangguan intestinal dan infeksisaluran kemih (Prescott, 2008).

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Maret 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

   Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar air flow cabinet*, timbangan analitik, inkubator, mikroskop, oven, autoklaf, *hot plate magnetic stirrer, centrifuge*, mikropipet, mikrotip 1 mL, cawan petri, jarum ose bulat, jarum ose runcing, tabung sentifugasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, bunsen, *erlenmeyer*, gelas piala, botol semprot, gelas benda, aluminium foil, kapas, kain kasa, benang, gunting, sarung tangan, dan masker

2. Bahan

   Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MRSA (de Mann Rogose Sharpe Agar), MRSB, NA (nutrient agar), akuades, alkohol 70%, Gram A, Gram B, Gram C, Gram D, Malachit green, H_2O_2

C. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif untuk mengetahui kemampuan antibakteri dari isolat BAL yang didapatkan dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Metode penelitian deskriptif digunakan untuk mengetahui variasi BAL bekasam ikan patin serta kemampuan antibakteri yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Prosedur yang dilakukan meliputi isolasi dan identifikasi isolat BAL, produksi antibakteri isolat BAL , serta uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. Metode pengukuran yang digunakan yaitu metode difusi sumur agar, Besarnya kemampuan hambatan dari antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. ditunjukkan dengan pengukuran luas zona jernih yang terbentuk disekitar sumur (Harley dan Prescott, 2002)

D. Prosedur Kerja

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam

   Isolasi dilakukan dengan mengencerkan 1 gr sampel bekasam kedalam 9 mL akuades steril, selanjutnya suspensi diencerkan hingga pengenceran 10^{-5}. Kemudian 1 mL suspensi diinokulasikan ke media MRSA menggunakan metode pour dengan masing-masing cawan duplo. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dengan posisi terbalik di inkubator. Selanjutnya isolat yang memiliki morfologi koloni berbeda dimurnikan pada media MRSA miring.

2. identifikasi dan Karakterisasi BAL dari Produk Bekasam

   Isolat murni BAL yang telah diisolasi ditumbuhkan pada media MRSA miring kemudian diidentifikasi dan dikarakterisasi berdasarkan sifat

morfologi maupun fisiologinya. Pengamatan morfologi meliputi morfologi koloni (bentuk koloni, elevasi, bentuk tepian) dan morfologi sel (pewarnaan gram, pewarnaan spora). Pengamatan sifat fisiologis dilakukan dengan pengujian katalase dan uji motilitas.

3. Produksi antibakteri

2.1 Pembuatan starter bakteri

Isolat berumur 24 jam diambil 1 ose dan diinokulasikan dalam 10 mL MRSB dan diinkubasi pada shaker selama 18- 24 jam

2.2 Produksi Antibakteri BAL

Sebanyak 10 mL starter yang sudah dibuat selanjutnya diinokulasikan dalam 90 mL MRSB, kemudian campuran tersebut diinkubasi pada shaker selama 24 jam (Lumbangaol, 2015)

2.3 Preparasi Antibakteri

1. Antibakteri tanpa penetralan

50 mL kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4^{O}C selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar antibakteri tanpa penetralan

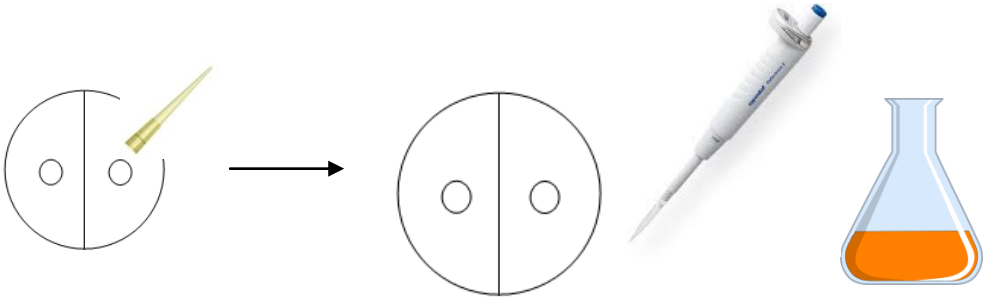
2. Antibakteri dengan penetralan

50 mL kultur dilakukan pengukuran pH dan dinetralkan menggunakan NaOH 1 M hingga dicapai pH 7, selanjutnya kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4^{O}C selama 15 menit.

Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar antibakteri dengan penetralan

3. Uji aktivitas antibakteri

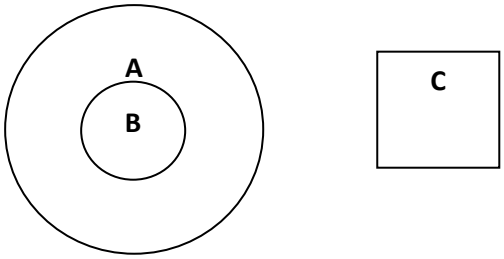
Tahap uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumur agar (*agar well difusion*). Pengujian dilakukan dengan menginokulasi 1 mL bakteri uji ke cawan petri steril, kemudian ditambahkan NA sebanyak 25 mL kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Campuran yang sudah padat dibuat empat lubang sumur pada setiap cawannya dengan diameter 7mm menggunakan tip pipet 1 mL steril. Antibakteri yang telah dibuat selanjutnya dimasukkan pada sumur sebanyak 100 µL, antibakteri yang digunakan meliputi antibakteri tanpa penetralan dan antibakteri yang sudah dinetralkan. Kedua jenis antibakteri tersebut diuji pada cawan yang berbeda dan diujikan pada *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.. Selanjutnya diinkubasi dengan posisi cawan tidak dibalik pada suhu 37^0C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk di sekitar sumur merupakan kemampuan hambat antibakteri BAL terhadap bakteri uji (Harley dan Prescott, 2002).



Gambar 2. Metode difusi sumur

4. Perhitungan luas zona hambat antibakteri BAL (Lumbangaol, 2015)

   Perhitungan luas zona hambat dilakukan untuk mengetahui kemampuan antibakteri BAL bekasam ikan patin terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp. Perhitungan dilakukan dengan menggambar luas zona yang terbentuk pada plastik kaku dengan ukuran sesuai dengan zona hambat yangterbentuk. Plastik dipotong sesuai gambar yang terbentuk dan selanjutnya ditimbang. Luas zona hambat antibakteri BAL diketahui dengan membandingkan berat masing-masing plastik kaku dengan plastik kaku yang telah dipotong dengan ukuran 1 cm^2 dan dikurangi luas lingkaran pada lubang sumur yang telah dibuat.



   A = Luas lingkaran lubang sumur (cm^2)

   B = Luas zona hambat (gram)

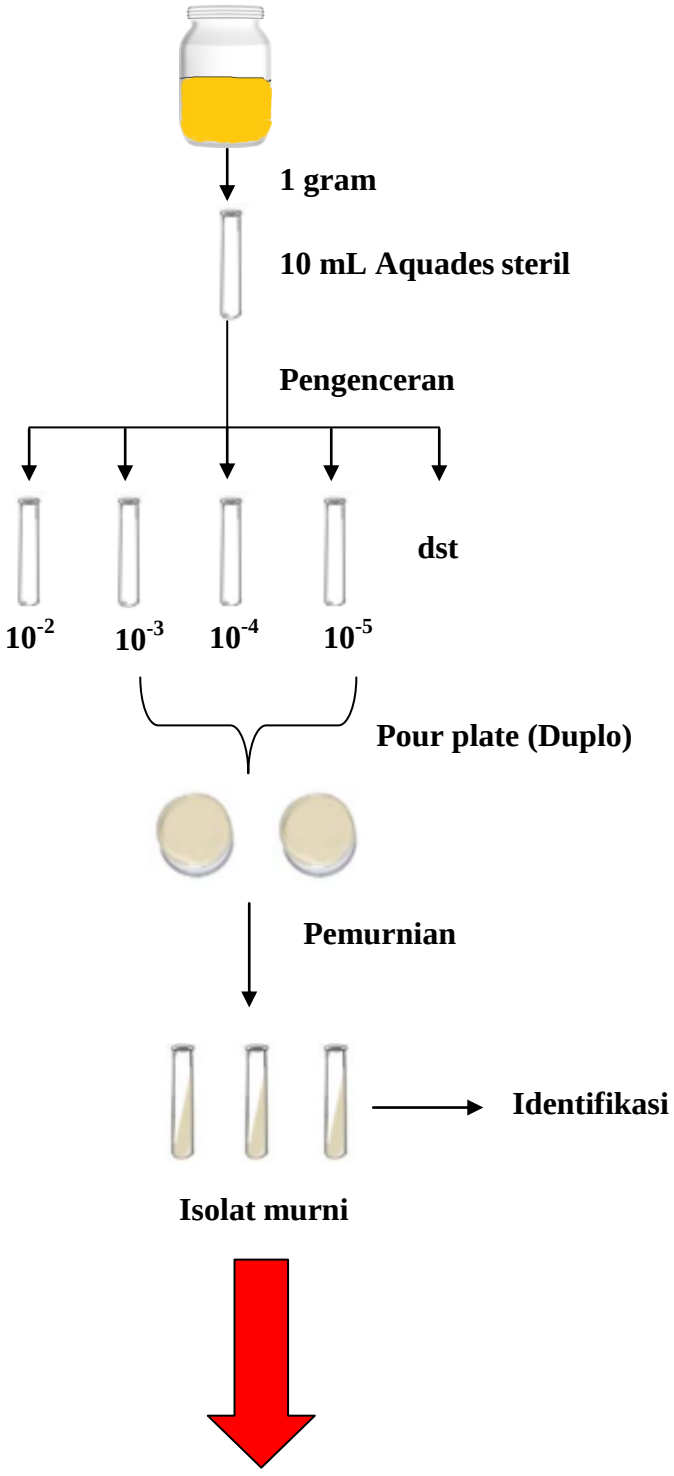
   C = Luas plastik kaku 1 cm^2 (gram)

$$\text{Luas Zona Hambat} = \frac{B}{C} - \text{A}$$

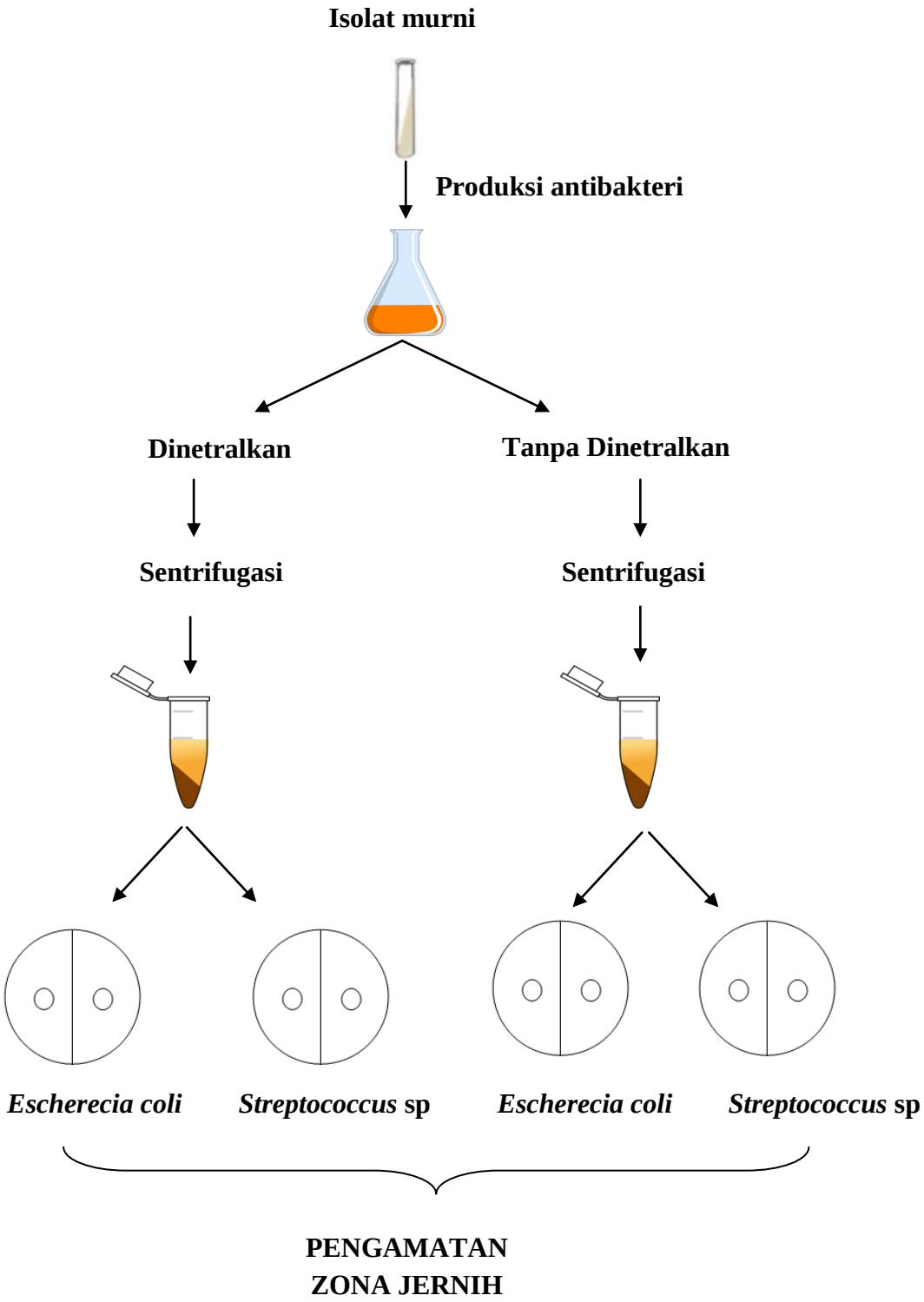
E. Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan melihat hasil dari zona jernih yang terbentuk dari uji aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh BAL terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.

F. Diagram Alir



Gambar 3. Diagram alir proses isolasi dan identifikasi BAL bekasam



Gambar 4. Diagram alir uji antibakteri BAL terhadap *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil simpulan sebagai berikut

1. Dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) didapatkan 9 isolat yang memiliki karakter yang berbeda satu sama lain
2. Antibakteri dari 9 isolat bakteri asam laktat (BAL) dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.
3. Isolat yang memiliki kemampuan daya hambat paling besar terhadap *Escherecia coli* adalah B4 dan terhadap *Streptococcus* sp. adalah B1

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji daya hambat ke 9 isolat terhadap bakteri patogen jenis lain.
2. Mengembangkan ke 9 isolat sebagai agen probiotik untuk mencegah gangguan kesehatan yang ditimbulkan oleh *Escherecia coli* dan *Streptococcus* sp.

DAFTAR PUSTAKA

Agustini, T.W., Susilowati, I., Subagyo, W.A., Setyawati and Wibowo, B.A. 2010. Will Soft Boned Milk Fish A Traditional Food Product from Semarang City, Indonesia-Breakthrough The Global Market. *Journal of Coastal Development.* 14 (1) :81-90

Alokomi, H.L., E. Skytta dan M. Saarela. 2000. Lactid Acid Permeabilizes Gram Negative Bacteria by Disrupting Outer Membran. *Appl and Environ Microbiol*. 66(5) : 2001-2005

Ammor, S.,G. Tauveron, E. Dufour, I. Chevallier. 2006. Antibacterial Activity of Lactid Acid Bacteria Against Spolage and Pathogenic Bacteria Isolated from the Same Meat Small-scale Facility: 1-Screening and Characterization of the Antibacterial Compound. *Food Control* 17 : 454-461

Anggraini, A.D. 2006. Potensi Propolis Lebah Madu Trigona spp. Sebagai Bahan Antibakteri.[skripsi], Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor

Arora, D., dan Arora, B. 2009. *Streptococcus, Text Book of Microbiology for Dental Student.* Alkem Company.United States

Candra, Joddi Iryadi. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Produk bekasam Ikan Bandeng (*Chanos chanos*).[skripsi], Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor. Bogor

Dewi, S. 2011. *Jurus Tepat Budidaya Ikan Patin*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta

Desniar, I. Rusmana, A. Suwanto, dan N.R Mubarik. 2013. Characterization of Lactid Acid Bacteria Isolated From an Indonesian Fermented Fish (Bakasam) and Their Antimicrobial Activity Againts Pathogenic Bacteria. Department of Aquatic Product Technology. Faculty of Fishiers and Marine Sciences. Bogor. *Journal Food Agricultures* 25 (6): 489-494

Fauzan A. 2009. Isolasi dan karakterisasi bakteri dari ikan laut dalam serta screening potensinya sebagai penghasil senyawa antibakteri [skripsi], Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor

Hardiningsih R, Napitupulu R, Yulinery T. 2005. Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah.*JurnalBiodiversitas*. 7(1):15-17

Heruwati, S.E. 2002. Pengolahan Ikan Secara Tradisional: Prospek dan Peluang Pengembangan. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. *Jurnal Litbang Pertanian* 21(3): 92–99. Jakarta

Herwono. 2001. *Pembenihan Ikan Patin*. Penebar Swadaya. Jakarta

Howlett, J. 2008. Functional Foods: *From Science to Health and Claims. International Life Sciences Institute Europe*. ISBN 9789078637110

Hutkins, R. W. 2006. *Microbiology and technology of fermented food*. Blackwell Publishing.Australia

Irianto HE, Giyatmi S. 2009. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Universitas Terbuka.Jakarta

Jawetz E, Melnick G dan Adelberg C. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi I. Salemba Medika. Surabaya

Kordi, G. H. 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Rineka Cipta. Jakarta

Kordi, G.H. 2010. *Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal*. Lily Publisher. Yogyakarta

Kusmiati dan Malik A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri Leuconostoc mesentroides Pbac1 pada berbagai media. *Bulletin Kesehatan*. 6(1):1-7

Maghfiroh, I. 2000. Pengaruh Penambahan Bahan Pengikat Terhadap Karakteristik Nugget dari Ikan Patin *(Pangasius hypothalamus)*[Skripsi].

Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor. Bogor

Marwati, T. 2007. Selection and Optimation of Process of Bacteriocin Production from Lactobacillus sp.. *Journal Post Harvest*. 4(1) : 27-37

Moat.A G; J W. Foster; and MP. Spector. 2002. *Microbial Physiology*. Fourth Edition. John Wiley & Sons, Inc

Murtini, T.J., E. Yuliana, Nurjanah, dan S. Nasran. 1992. Pengaruh Penambahan Starter Bakteri Asam Laktat pada Pembuatan Bekasam Ikan Sepat (*Trichogaster trichopterus*) terhadap Mutu dan Daya Awetnya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* III(2) : 71-82

Nomura,Y., Takeuchi, H., Martin., Iguchi, R., Toyoshima, Y., Kono, Y., Ikemi, T., Imai, S., Nishizawa, T., Fukushima, K., dan Hanada, N. 2004. Feasibility of Eradication of Mutans Streptococci from Oral Cavities. *Journal of Oral Science*, 46(3) : 179-183

Nuraini, A., Ibrahim, R., dan Rianingsih, I. 2014. The Effect of Different Concentration Addition of Cooked Rice as Carbohydrates Sources and Brown Sugar to the Qualityc"Bekasam"Made of Red Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 10(1):19-25

Palaez SM, SM Orue. 2010. Feeding Stategies for the Control of *Salmonella* in Pigs. *Food Sci and Technol Bulletin* 5 (1) : 39-47

Prescott, L.M., Harley,J.P Klein D.A. 2008. *Microbiology.*William C. Brown Publishers. USA

Puspita, Ikma Ratna. 2011. Penapisan Antibakteri yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Seluang (*Rasbora argyrotaenia*) [skripsi], Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor. Bogor

Purnama, Yoga Indra. 2011. Produksi Senyawa Antibakteri Isolat Bakteri Ns(9) dari Bekasam Ikan Nila(*Oreochromis niloticus*)[skripsi], Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor. Bogor

Putri, F.S., Z. Hasan, dan K. Haetami. 2012. Pengaruh Pemberian Bakteri Probiotik pada Pelet yang Mengandung Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*)

Terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Nila (*Oreochromis nilotocus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (4) : 283-291

Ray, B.. 2004.*Fundamental Food Microbiology*.CRC Press. United States

Seki M, Iida K, Saito M, Nakayama H, Yoshida S. 2004. Hydrogen peroxide production in streptococcus pyogenes: involvement of lactate oxidase and coupling with aerobic utilization of lactate. *Journal of Bacteriology* ; 186(7):2046-51

Soeza, D.F.C., D.T. Rosa, and Y.A.M. Ayub. 2003. Change in the Microbiological and Physicochemical of Serrano Cheese During Manufacture and Ripening. *Journal. Brazilian journal of microbiology*.34(3):260-266.

Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNISA-Pres. Surabaya

Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., Denamur, E., 2010. The Population Genetic of Commensal *Escherichia coli*. *Journal of Nat.Rev. Microbiology.* 8: 207-217

Theron MM, Lues JFR. 2011. *Organic Acid and Food Preservation*. CRC Press. United States

Tiwari RP, Hoondal GS, Tewari R. 2009. *Laboratory Techniques in Microbiology and Biotechnology*. Abhishek Publication. New Delhi

Usmiati S dan Marwati T. 2007. Seleksi dan Optimasi Proses ProduksiBakteriosin dari *Lactobacillus*sp. *Jurnal Pascapanen*. 4(1):27-37

Utami, P., S. Lestari, S.D.Lestari. 2016. Pengaruh Metode Pemasakan Terhadap Komposisi Kimia dan Asam Amino Ikan Seluang (Rasbora argyrotaenia). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 5 (1) : 73-84

Wikandari, P.R., Suparmo, Y. Marsono, dan E.S. Rahayu. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*. 14 (2): 120-125

Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., dan Fillmore, S. 2012. Antimocrobial Activity of Bacteriocin-Producing Lactid Acid Bacteria Isolated from Cheeses and Yogurts. *AMB Express*. 2(48) : 1-12