



# Sertifikat

Diberikan kepada :

*Rinto, S.Pi. MP*

Sebagai  
**PEMAKALAH**

**SIMPOSIUM DAN SEMINAR NASIONAL**  
**HASIL-HASIL PENELITIAN DAN PENGKAJIAN TAHUN 2010**  
Tema :  
"HASIL-HASIL RISET UNTUK MENINGKATKAN KESEJAHTERAAN MASYARAKAT"

Diselenggarakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah Provinsi Sumatera Selatan  
Bekerjasama dengan Dewan Riset Daerah Sumsel dan Asosiasi Peneliti Sumsel

Palembang, 13-14 Desember 2010

Kepala Balitbangda  
Prov.Sumsel,  
*[Signature]*  
DR/Hj. Ekowati R., SKM., M.Kes

Ketua DRD Sumsel,  
*[Signature]*  
Prof.Dr.Ir. Fachrurrozie Sjarkowi

Ketua Asosiasi Peneliti Sumsel,  
*[Signature]*  
Ir.H.M. Solichin, M.S



# PROSIDING

## SEMINAR NASIONAL HASIL-HASIL PENELITIAN DAN PENGAJIAN

PALEMBANG, 13-14 DESEMBER 2010

### "Hasil - Hasil Riset Untuk Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat"

Editor:

Prof. Dr. Ir. Siti Herlinda, M.Si.  
Ir. Ernita Rizar, MM  
Oom Komalasari, S.Si.  
Ir. M. Solichin, M.P.  
Hamzah Hasyim, S.K.M., M.K.M  
Dr. Ir. M. Yamin Hasan, M.P.  
Prof. Dr. Joni Emirzon, S.H., M.Hum  
Budi Reharjo, STP, M.Si

ISBN 978-602-948295-0-1



978602948295011

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN DAERAH  
PROVINSI SUMATERA SELATAN  
BEKERJASAMA DENGAN  
DEWAN RISET DAERAH SUMSEL DAN ASOSIASI PENELITI SUMSEL

## DAFTAR ISI

Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Makalah Keynote Speaker	xix
1. Kebijakan Riset dan Teknologi untuk Pencapaian Ketahanan Pangan dan Peningkatan Kesejahteraan Petani (Prof. Dr. Ir. Benyamin Lakitan, M.Sc., Kementerian Riset dan Teknologi, RI)	xix
2. Pengembangan Transportasi Udara Bersih Mendukung SIDA Sumatera Selatan (Dr. Ir. Erika Buchari, M.Sc., Dewan Riset Daerah Sumatera Selatan)	iv
3. Opening Export Market for Indonesian Smes to China: Study of the Complementarity and Competitiveness of Economic Relations Between China and Indonesia (Liem Gai Sin, Ma Chung University, China)	lxvii
4. Jaminan Kesehatan dalam Rangka SJSN (Dr. Atikah Adyas, M.D.M., Dewan Jaminan Sosial Nasional, RI)	lxviii
5. Otonomi Daerah dalam Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat (Dr. Muh. Marwan, M.Si., Kepala Badan Litbang, Kementerian Dalam Negeri, RI)	xcv
Makalah Penunjang	1
<b>A Pangan</b>	1
1. Isolasi Bakteri Asam Laktat Pendegradasi Sianida Dari Cairan Rumen (A.Fariani, A.Abrar & Mudrikah : Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya)	1
2. Evaluasi Fraksi Serat Kasar Ampas Teh Yang Diamoniasi dengan Dosis Urea yang Berbeda (Armina Fariani, Manurung NB, Arfan Abrar: Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya)	11
3. Evaluasi Serangan Hama Utama pada Beberapa Varietas Padi di Desa Pulung Kencana, Kabupaten Tulang Bawang, Lampung (Dewi Rumbaina Mustikawati, Nina Mulyanti : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Lampung)	22
4. Tingkat Stres dan Kelangsungan Hidup Pasca Larva Udang Vaname ( <i>Litopenaeus Vanname</i> ) selama Masa Penurunan Salinitas Rendah dengan Penambahan Natrium dan Kalium (Ferdinand Hukama Taqwa, D Jubaedah, M.Syaifuldin, O.Saputra: PS Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya)	27
5. Perbedaan Teknik Penggilingan Padi Terhadap Karakteristik Mutu Beras (Jumali, I.P Wardana dan Ade Ruskandar: Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi)	37
6. Pengembangan Agroindustri Abon Ikan Patin dalam Mendukung Ketahanan Pangan di Provinsi Jambi (Yusma Damayanti : Jurusan Agribisnis, FP Universitas Jambi)	51

7.	Petuang Peningkatan Produktivitas Padi melalui Pengelolaan Tanaman dan Sumberdaya Terpadu (PTT) Padi Lahan Rawa Pasang Surut di Sumatera Selatan ( <i>Imelda S Marpaung, Budi Raharjo: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumsel</i> )	63
8.	Potensi Pemanfaatan Gulam sebagai Pakan Ternak pada Integrasi Ternak Rumansia dengan Perkebunan ( <i>Ali, A.I.M. A.Imaya dan Yakup : Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya</i> )	74
9.	Penggunaan Sinar Ultraviolet untuk Menekan Penyakit Busuk Asam pada Buah Tomat Pasca Panen ( <i>Nurhayati, Suparman SHK dan Yuni Lestari: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fak.Pertanian Universitas Sriwijaya</i> )	84
10.	Pengaruh Sistem Tanam Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Ubikayu di Lahan Kering Masam KP Antar ( <i>Endriani dan Robert Asnawi: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Lampung</i> )	93
11.	Kandungan Kadar Vitamin B1 dan Amilosa Beras dari Beberapa Varietas Unggul Baru ( <i>Ratna Wylis Ariel dan Dewi Rumbaina M: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Lampung</i> )	100
12.	Karakteristik Crude Fish Liver Oil Ikan Patin yang Diekstrak dengan Metode Bligh dan Dyer ( <i>Agus Supriadi, Kiki Yulianti, Triana Mareta: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya</i> )	106
13.	Produktivitas Kedelai Melalui Pengelolaan Tanaman Terpadu (PTT) di Kabupaten Musi Rawas Sumatera Selatan ( <i>Tumarlan Thamrin, Yanter Hutapea dan Rudy Soehendi: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Selatan</i> )	115
14.	Bakteri Asam Laktat dari Pencernaan Nila dan Tongkol yang Berpotensi Menghambat Bakteri Pembusuk, Pembentuk Histamin dan Patogen pada Produk Perikanan ( <i>Rinto, Ade Dwi Susanti, Kusumawati Fitria: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya</i> )	125
15.	Upaya Mencapai Swasembada Kedelai di Sumatera Selatan ( <i>Yanter Hutapea, Dedeh Hadiyanti dan Yeni : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumsel</i> )	147
16.	Pengaruh Jenis Larutan Perendam dan Lama Waktu Pengemasan Terhadap Mutu Tepung Kacang Hijau Instan ( <i>Yuniar : Politeknik Negeri Sriwijaya</i> )	161
17.	Evaluasi Lahan Untuk Pengembangan Tanaman Padi Sawah di Daerah Reklasi Rawa Pasang Surut Karang Agung Hilir Sumatera Selatan ( <i>Momon Sosik Imanudin, Dwi Probowati dan Budi Raharjo: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumsel</i> )	170

**BAKTERI ASAM LAKTAT DARI PENCERNAAN NILA DAN  
TONGKOL YANG BERPOTENSI MENGHAMBAT BAKTERI PEMBUSUK,  
PEMBENTUK HISTAMIN, DAN PATOGEN PADA PRODUK PERIKANAN**

Rinto, Ade Dwi Sasanti, Kusamawati Fitria  
Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya

**ABSTRAK**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri asam laktat yang mampu menghambat bakteri pembusuk, bakteri pembentuk histamin dan bakteri patogen yang ada pada produk-produk perikanan. Metode yang digunakan adalah dengan melakukan tahapan-tahapan isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan tongkol dan ikan nila dan dilanjutkan dengan melakukan uji pertumbuhan isolat pada suhu ruang dan suhu dingin. Bakteri uji yang akan dihambat adalah *Bacillus subtilis* sebagai bakteri pembusuk, *Morganella morganii* sebagai bakteri pembentuk histamin, dan *Escherichia coli* sebagai bakteri patogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat bakteri asam laktat yang mempunyai daya hambat terbesar terhadap bakteri pembusuk, pembentuk histamine dan pathogen, yaitu isolat N<sub>1</sub>10<sup>4</sup> dan T<sub>0</sub>10<sup>5</sup>. Kedua isolat tersebut mampu tumbuh pada suhu 30°C dan 5°C, namun pertumbuhan optimum pada suhu 30°C.

*Kata kunci: Bakteri asam laktat, nila, tongkol*

**PENDAHULUAN**

**A. Latar Belakang**

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan golongan bakteri gram positif, katalase negatif, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang, menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama selama fermentasi karbohidrat (Axelsson, 1993). Selain itu, bakteri asam laktat juga menghasilkan bakteriosin dan menurunkan pH yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain (Afrianto *et al.*, 2006).

Pada berbagai produk pangan, bakteri asam laktat dapat digunakan dalam menekan pertumbuhan beberapa bakteri pembusuk dan patogen untuk meningkatkan umur simpan dan keamanan pangan. Fardiaz (1992) menyebutkan bahwa penambahan bakteri asam laktat golongan *Lactobacillaceae* pada bahan pangan, dapat menghambat beberapa bakteri patogen seperti *Salmonella*,

*Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Pada penelitian Rostini (2007) bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) telah diaplikasikan pada filet ikan nila merah untuk menghambat bakteri pembusuk. Beberapa bakteri pembentuk histamin juga termasuk dalam golongan bakteri pembusuk yang mempunyai kemampuan merombak histidin menjadi histamin. Oleh karena itu, sangat dimungkinkan bakteri asam laktat juga mampu menghambat bakteri pembentuk histamin.

Selama ini bakteri asam laktat banyak diisolasi dari produk-produk fermentasi. Namun keberadaan bakteri asam laktat juga dapat ditemui pada saluran pencernaan ikan, seperti penelitian Mayasari (2008) yang mengisolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan nila, gurami, dan lele. Selanjutnya Rinto (2010) menyebutkan bahwa pada ikan kembung segar terdapat bakteri asam laktat sebanyak  $5,20 \times 10^3$  CFU/g. Menurut penelitian Feliatra *et al.*, (2004) pada ikan kerapu macan terdapat 9 spesies bakteri yang berpotensi sebagai probiotik, diantaranya bakteri asam laktat yaitu *Lactococcus* sp., *Carnocacterium* sp., *Eubacterium* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Bifidobacterium* sp.

Dilihat dari pentingnya peranan bakteri asam laktat dan beberapa penelitian yang telah dilakukan, sangat memungkinkan untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan nila dan tongkol yang berpotensi menghambat *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*.

## B. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh isolat BAL dari pencernaan nila dan tongkol.
2. Memperoleh isolat BAL terpilih yang mampu menekan pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*.
3. Mengetahui pola pertumbuhan BAL terpilih pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C.

## BAHAN DAN METODE

### A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, dan Laboratorium Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

## B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, beaker glass, jarum ose, bunsen, *magnetic stirrer*, pipet mikro, inkubator, autoclave, neraca analitik, mikroskop, penangas air, *mixer vortex*, refrigirator, sentrifuge, tabung *effendorf*, dan jangka sorong.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sampel ikan nila dan ikan tongkol (sebagai sampel untuk diisolasi), MRS (*de Mann Rogosa Sharpe*), NB (*Nutrient Broth*), agar *technical*,  $\text{CaCO}_3$ , akuades, akuabides, alkohol 70%, NaCl, larutan *Crystal violet*, *Lugo's iodine*, alkohol 96%, safranin,  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%, sodium azida ( $\text{NaN}_3$ ), gliserol, kultur murni *Bacillus subtilis* diperoleh dari Laboratorium MIPA Biologi Universitas Sriwijaya, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Universitas UGM, Yogyakarta.

## C. Metode Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dengan metode laboratorium yang terdiri dari beberapa tahap, yaitu isolasi BAL dari pencernaan nila dan tongkol, pengujian BAL yang mempunyai aktifitas penghambatan terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli* dan menguji pola pertumbuhan BAL pada suhu ruang (30 °C) dan suhu dingin (0-5 °C).

## D. Cara Kerja

Adapun cara kerja yang telah dilakukan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

### 1. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Tujuan dari tahap penelitian ini adalah memperoleh isolat BAL dari pencernaan nila dan tongkol, yaitu dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Isolasi bakteri asam laktat dilakukan sampai pengenceran  $10^5$ . Saluran pencernaan nila dan tongkol diambil sebanyak 1 g dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan dalam akuades steril sebanyak 9 mL, lalu

dihomogenkan dengan menggunakan *mixer vortex* selama 1-2 menit. Pengenceran dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL larutan dari tabung reaksi ke satu kemudian di masukan ke dalam tabung reaksi ke dua yang diberi 9 mL akuades, begitu seterusnya sampai pada tabung reaksi ke lima.

- b. Isolat bakteri asam laktat yang diduga ada pada saluran pencernaan ikan, yaitu pada pengenceran  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^5$  ditumbuhkan secara seri pada 15 mL MRS- $\text{CaCO}_3$  1% yang ditambahkan dengan sodium azida 10 ppm untuk menghambat pertumbuhan mikroaerob, lalu diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.
- c. Bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat pada media MRS- $\text{CaCO}_3$  1% membentuk koloni dengan zona jernih di sekitar koloni.
- d. Beberapa koloni yang mempunyai bentuk dan luasan zona jernih yang berbeda dimurnikan dengan metode gores kuadran pada 15 mL MRS agar, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.
- e. Satu koloni yang diperkirakan murni, kemudian dikembangbiakan pada 9 mL MRS agar miring untuk penyimpanan.
- f. Untuk keperluan pembuatan stok biomasa BAL, inokulum yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan ditumbuhkan pada 5 mL MRS cair, kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Kultur dalam media MRS cair disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan/filtrat yang terbentuk dibuang. Pellet biomasa dicuci dengan NaCl 0,85% disentrifugasi kembali dan supernatan/filtrat dibuang. Pembuatan kultur stok masing-masing bakteri dilakukan dengan menambahkan campuran 10% gliserol steril dari biomasa sel hasil sentrifugasi pada tabung *effendorf* dan dilanjutkan dengan penyimpanan dalam kondisi beku.

## 2. Uji Pendukung Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebelum dilakukan pengujian antagonis terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*, isolat-isolat bakteri terpilih dilakukan uji pendukung. Tujuan dari pengujian ini adalah sebagai uji pendukung bahwa isolat-isolat bakteri terpilih merupakan bakteri asam laktat, yaitu berdasarkan sifat-sifat umum bakteri asam laktat dengan melalui serangkaian pengujian meliputi



pewarnaan gram, morfologi koloni bakteri, dan uji katalase (Axelsson, 1993). Adapun tahapannya, yaitu sebagai berikut:

#### a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk membedakan antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu dan gram negatif berwarna merah. Tahapan dari pewarnaan gram adalah sebagai berikut:

- a. Kaca preparat yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian ditetesi dengan akuades.
- b. Beberapa koloni bakteri pada agar miring diambil, kemudian dihomogenkan dengan akuades yang ada pada kaca preparat.
- c. Kaca preparat yang telah ada bakterinya difiksasi dengan menggunakan bunsen ( $\pm 15$  cm di atas api) selama beberapa detik.
- d. Setelah dingin, pewarna A (*Hucker's Crystal Violet*) ditetaskan pada kaca preparat, lalu dibiarkan selama 1 menit 30 detik kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir selama 30 detik.
- e. Pewarna B (*Lugol's iodine*) ditetaskan pada kaca preparat, lalu dibiarkan selama 3 menit, kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir selama 20 detik.
- f. Pewarna C (*Alkohol 96%*) ditetaskan pada kaca preparat, lalu dibiarkan selama 5-10 detik, kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir selama 1 menit.
- g. Pewarna D (*Hucker's counterstain/safranin*) ditetaskan pada kaca preparat, lalu dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir selama 1 menit.
- h. Kaca preparat dikeringkan dan diamati warna sel bakteri.

#### b. Morfologi Koloni Bakteri

Pengamatan morfologi koloni bakteri yaitu melihat keseragaman bentuk dari sel bakteri (batang, bulat atau koma) di bawah mikroskop. Pengamatan ini dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a. Koloni bakteri pada agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose, diletakkan pada kaca preparat steril.

- b. Kaca preparat yang telah ada bakterinya ditetesi dengan *buffer*, lalu ditutup dengan kaca penutup.
- c. Pengamatan morfologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 1000x.

#### c. Uji Katalase

Menurut Lay (1994), uji katalase dilakukan dengan menggunakan larutan  $H_2O_2$  3%. Jika terdapat gelembung udara secara seketika berarti uji katalase tersebut positif, sebaliknya jika bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung udara. Pengujian ini dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a. Isolat dari agar miring diambil satu ose, kemudian dioleskan pada kaca preparat yang telah diberi alkohol.
- b. Preparat ditetesi dengan larutan  $H_2O_2$  3%.
- c. Gelembung udara yang terbentuk pada preparat diamati.

### 3. Uji Antagonis BAL terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*

Tujuan dari tahap penelitian ini adalah untuk mengetahui sebatas mana BAL mampu melawan bakteri pembusuk, bakteri pembentuk histamin dan bakteri patogen, yaitu dengan tahapan sebagai berikut:

#### a. Uji Penghambatan terhadap *Bacillus subtilis*

Pada uji penghambatan terhadap *Bacillus subtilis* dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a. Pengkulturan *Bacillus subtilis* dalam 5 mL medium *Nutrient Broth* (NB) dilakukan dua hari sebelum uji antagonis, yaitu sebagai kultur murni kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.
- b. Bakteri asam laktat hasil seleksi diambil sebanyak 1 ose dan ditumbuhkan pada 5 mL *MRS broth*, diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.
- c. Pengujian dilakukan dengan metode sumur agar dengan teknik dua lapis, dimulai dengan menuangkan 8 mL medium NB soft (dengan komposisi NB ditambahkan dengan 0,75% agar) yang telah diinokulasikan dengan *Bacillus subtilis* sebanyak 100  $\mu$ L dari kultur murni, yaitu sebagai lapis pertama dengan

ketebalan  $\pm 0,2$  cm. Setelah lapis pertama agak memadat, dilanjutkan lapis kedua dengan ketebalan  $\pm 0,4$  cm yaitu dengan menuangkan 16 mL medium NB soft kemudian dibiarkan memadat.

- d. Setelah memadat dibuat sumuran (lubang) dengan 4 ulangan dan 1 kontrol dengan menggunakan akuabides, suspensi BAL yang disiapkan sebelumnya diambil sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dan diteteskan pada 4 sumuran, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam.
- e. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan mengukur rata-rata dari zona bening titik terdekat dan titik terjauh kemudian dikurangi diameter sumuran dengan menggunakan jangka sorong.

**b. Uji Penghambatan terhadap *Morganella morganii***

Tahapan uji penghambatan terhadap *Morganella morganii* dilakukan seperti pada uji penghambatan terhadap *Bacillus subtilis*, yaitu dengan metode sumur.

**c. Uji Penghambatan terhadap *Escherichia coli***

Pada uji penghambatan terhadap *Escherichia coli* juga dilakukan seperti pada uji penghambatan di atas, yaitu dengan metode sumur agar.

**d. Uji Pola Pertumbuhan BAL pada Suhu Ruang 30°C dan Suhu Dingin 0-5 °C**

Tujuan dari tahap penelitian ini adalah mengetahui pola pertumbuhan BAL pada suhu ruang dan suhu dingin, yaitu dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Bakteri asam laktat terbaik yang mampu menghambat *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli* diambil 1 mL kemudian ditumbuhkan pada 4 mL MRS cair dalam tabung reaksi, diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam, yaitu sebagai kultur peremajaan.
- b. Selanjutnya dari kultur peremajaan diambil 500  $\mu\text{L}$  kemudian ditumbuhkan pada 4,5 mL MRS cair dalam tabung reaksi, lalu disimpan pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C. Kultur ini yang digunakan untuk penaburan (*plating*).
- c. Laju pertumbuhan sel diukur setiap 3 jam selama 24 jam yaitu dengan menghitung koloni yang tumbuh pada MRS padat, selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

#### e. Analisis Data

Data-data yang diperoleh pada semua tahapan penelitian telah dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan menggambarkan/menjelaskan berbagai isolat BAL yang mempunyai daya penghambat terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*, dan menggambarkan/menjelaskan pola pertumbuhan BAL terpilih yang disimpan pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan dari saluran pencernaan ikan nila dan tongkol yang diperoleh dari pasar Indralaya, Ogan Ilir. Sampel yang diperoleh sebagai sumber bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 1.



(A) (B)

Gambar 1. Sampel saluran pencernaan ikan  
(A) Ikan nila, (B) Ikan tongkol

Semua isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari pengenceran  $10^{-2}$  sampai  $10^{-5}$  diinokulasikan pada media *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRS agar) dengan penambahan  $\text{CaCO}_3$ . MRS agar merupakan media isolasi yang spesifik sering disebut sebagai media selektif, digunakan untuk menumbuhkan dan memelihara bakteri tertentu. Dengan sifat kekhususannya maka MRS- $\text{CaCO}_3$  dapat menyeleksi bakteri asam laktat secara langsung sedangkan bakteri lain terhambat pertumbuhannya dan lolos dari isolasi (Oxoid, 1982).

Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRS- $\text{CaCO}_3$  menunjukkan koloni dengan membentuk zona jernih (*clear zone*) disekitar

koloninya, yang berarti adanya produksi asam laktat oleh bakteri tersebut. Hasil isolasi bakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Dari sekian banyak isolat bakteri asam laktat tersebut, hanya koloni yang memiliki bentuk dan luasan zona jernih berbeda yang dipilih untuk uji selanjutnya. Isolat bakteri terpilih dapat dilihat pada Tabel 2.

Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap 12 isolat terpilih dengan menggunakan media yang sama dengan media isolasi yaitu MRS agar, dengan menggunakan metode goresan kuadran (*streak quadrant*). Prinsip utama goresan kuadran yaitu mengusahakan agar koloni satu dengan yang lain terpisah menjadi koloni tunggal (Pradhika, 2008). Isolat murni yang diperoleh selanjutnya dilakukan identifikasi umum dan disimpan sebagai *stock*, isolat disimpan dalam media penyimpanan yang disimpan pada suhu 5°C.

Tabel 1. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh

Sampel	Pengen ceran	$\Sigma$ Koloni	$\Sigma$ Koloni BAL*	Isolat Bakteri	
Nila	$10^3$	TBUD	1	$N^1 10^3$	Keterangan: TBUD = 1. Terlalu Banyak Untuk 2. Dihitung * = $\Sigma$ koloni BAL menunjukkan koloni yang nyata 1. membentuk zona 2. jernih pada media MRS-CaCO <sub>3</sub>
	$10^4$	184	7	$N^1 10^4_1$ , $N^1 10^4_2$ , $N^1 10^4_3$ , $N^1 10^4_4$ , $N^1 10^4_5$ , $N^1 10^4_6$ , $N^1 10^4_7$ , $N^2 10^4$ $To^1 10^3$ $To^1 10^3$ $To^1 10^3$ $To^1 10^3_4$ $To^2 10^3$ $To^2 10^4_1$ , $To^2 10^4_2$	
Tongkol	$10^5$	66	1	$To^1 10^5$	
	$10^3$	94	5	$To^1 10^3$ $To^1 10^3_4$ $To^2 10^3$ $To^2 10^4_1$ , $To^2 10^4_2$	
	$10^4$	78	2	$To^1 10^3$ $To^1 10^5$ $To^1 10^5_3$	
	$10^5$	60	3		

Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap 12 isolat terpilih dengan menggunakan media yang sama dengan media isolasi yaitu MRS agar. Metode yang digunakan adalah metode goresan kuadran (*streak quadrant*). Prinsip utama goresan kuadran yaitu mengusahakan agar koloni satu dengan yang lain terpisah menjadi koloni tunggal (Pradhika, 2008). Daerah pertama merupakan goresan awal sehingga masih mengandung banyak sel mikroorganisme. Goresan

selanjutnya disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah koloni semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal. Isolat murni yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji pendukung dan disimpan sebagai stok, isolat disimpan dalam media penyimpanan pada suhu 0-5 °C.

Tabel 2. Isolat bakteri terpilih

Sampel	Isolat Bakteri	Keterangan
Nila	$N^1 10^3$	4 isolat
	$N^1 10^4$	1
Tongkol	$N^1 10^4$	2
	$N^2 10^5$	
	$To^1 10^3$	1
	$To^1 10^3$	2
	$To^1 10^3$	3
	$To^2 10^4$	1
	$To^2 10^4$	2
	$To^1 10^5$	1
	$To^1 10^5$	2
	$To^1 10^5$	3

#### B. Uji Pendukung Bakteri Asam Laktat

Pengujian ini dilakukan sebagai uji pendukung bahwa isolat-isolat bakteri terpilih merupakan bakteri asam laktat, yaitu berdasarkan sifat-sifat umum bakteri asam laktat. Sifat-sifat umum bakteri asam laktat itu antara lain berbentuk batang atau bulat, gram positif, katalase negatif dan mampu menghasilkan asam laktat pada media pertumbuhannya. Untuk itu dilakukan serangkaian pengujian guna menentukan apakah bakteri dari 12 isolat terpilih termasuk golongan bakteri asam laktat atau tidak, yaitu meliputi pewarnaan gram, morfologi koloni bakteri dan uji katalase. Hasil uji pendugaan 12 isolat dapat dilihat pada Tabel 3.

Pewarnaan gram adalah pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, karena merupakan

tahapan penting dalam langkah awal identifikasi. Pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau tipisnya lapisan peptidoglikan di dinding sel dan sedikit banyaknya lapisan lemak pada membran sel bakteri. Jenis bakteri berdasarkan pewarnaan gram dibagi menjadi dua, yaitu gram positif dan gram negatif. Proses pewarnaan diferensial ini menggunakan 4 jenis reagen. Reagen pertama disebut warna dasar berupa pewarna basa, yaitu *crystal violet* (CV) yang berfungsi untuk mewarnai dengan jelas (*primary stain*). Reagen kedua yaitu *lugol's iodine* yang berfungsi untuk meningkatkan afinitas pada komponen sel pada pewarnaan (*mordant*), semua bakteri akan diwarnai biru pada fase ini. Reagen ketiga yaitu etanol (alkohol 96%), disebut sebagai bahan pencuci warna (*decolorizing agent*). Tercuci tidaknya warna dasar tergantung pada komposisi dinding sel, jika komponen dinding sel kuat mengikat warna dasar maka warna tidak akan tercuci, sebaliknya komponen dinding sel yang tidak kuat mengikat warna dasar maka warna akan tercuci. Reagen terakhir yaitu *safranin* disebut sebagai warna pembanding (*counterstain*), jika warna tidak tercuci maka warna pembanding akan terlihat seperti warna dasarnya (Axelsson, 1993).

Menurut Pradhika (2008), fase yang paling kritis pada pewarnaan gram adalah pada tahap dekolorisasi yang mengakibatkan *CV-iodine* lepas dari sel. Karena pemberian etanol (alkohol 96%) yang berlebihan menyebabkan *overdecolorization* sehingga sel gram positif tampak seperti gram negatif. Namun pemberian etanol yang terlalu sedikit juga menyebabkan *underdecolorization* yaitu tidak melenyutkan *CV-iodine* secara sempurna sehingga sel gram negatif tampak seperti gram positif. Dan preparasi pewarnaan gram terbaik adalah menggunakan kultur muda yang tidak lebih lama dari 24 jam, karena umur kultur mempengaruhi pada kemampuan sel menyerap *crystal violet* khususnya pada sel gram positif.

Hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 12 isolat terpilih memberikan pewarnaan ungu, yang berarti termasuk dalam golongan bakteri gram positif. Terbentuknya warna ungu pada bakteri gram positif disebabkan karena lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri yang tebal dan hanya mempunyai membran sel selapis, sehingga mampu mengikat *crystal violet*. Bakteri asam laktat termasuk dalam golongan bakteri gram positif (Stamer, 1979 dalam Hassan, 2006).

Pengamatan morfologi, yaitu pengamatan sel secara mikroskopis. Dari hasil pengamatan morfologi yang telah dilakukan, pada 12 isolat terpilih menunjukkan bahwa semua bakteri tersebut memiliki hasil yang sama yaitu sel berbentuk batang.

Selanjutnya uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji yaitu dengan menambahkan  $H_2O_2$  sebagai reagen. Katalase positif menunjukkan timbulnya gelembung udara ini memberikan indikasi terbentuknya gas  $O_2$  dari pemecahan  $H_2O_2$  oleh enzim katalase bakteri tersebut, seperti ditunjukkan pada reaksi berikut:



Hasil uji katalase yang telah dilakukan pada 12 isolat terpilih menunjukkan reaksi negatif yaitu tidak menghasilkan gelembung udara terhadap uji ini,  $H_2O_2$  yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri ini sehingga tidak menghasilkan oksigen. Hal ini berarti isolat terpilih tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan  $H_2O_2$ . Penelitian ini sejalan dengan pendapat Stamer (1979) dalam Hassan (2006), yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak mampu memproduksi enzim katalase.

Dari semua hasil uji pendugaan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 12 isolat terpilih, yaitu 4 isolat dari saluran pencernaan ikan nila dan 8 isolat dari saluran pencernaan ikan tongkol tergolong dalam bakteri asam laktat, karena memiliki sifat-sifat umum dari bakteri asam laktat. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan bakteri asam laktat ini mendekati genus *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Eubacterium* dan *Bifidobacterium*, seperti pada penelitian Mayasari (2008) pada saluran pencernaan ikan nila terdapat bakteri asam laktat *Lactobacillus* dengan ciri-ciri sel berbentuk batang, gram positif dan tidak memproduksi katalase. Sejalan dengan penelitian Feliatra *et al.* (2004), mengatakan bahwa *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Eubacterium* dan *Bifidobacterium* mempunyai bentuk sel batang, gram positif, katalase negatif dan tumbuh optimum pada suhu 30-37 °C.



Tabel 3. Uji pendukung isolat bakteri terpilih

Isolat Bakteri	P.Gram	Morfologi	Katalase	Ket	
N <sup>2</sup> 10 <sup>3</sup>	+	Batang	-	BAL	
N <sup>1</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>1</sub>	+	Batang	-	BAL	
N <sup>1</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>2</sub>	+	Batang	-	BAL	
N <sup>2</sup> 10 <sup>5</sup>	+	Batang	-	BAL	
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>1</sub>	+	Batang	-	BAL	
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>2</sub>	+	Batang	-	BAL	
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>3</sub>	+	Batang	-	BAL	Keterangan:
To <sup>2</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>1</sub>	+	Batang	-	BAL	+ = golongan
To <sup>2</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>2</sub>	+	Batang	-	BAL	bakteri gram positif
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>1</sub>	+	Batang	-	BAL	- = tidak
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>2</sub>	+	Batang	-	BAL	menghasilka
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>3</sub>	+	Batang	-	BAL	n gelembung
					udara

### C. Uji Antagonis BAL terhadap *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii* dan *Escherichia coli*

Tahap pengujian ini dilakukan untuk mengetahui sebatas mana kemampuan dari 12 isolat bakteri asam laktat dalam menghambat aktifitas hidup terhadap *Bacillus subtilis* sebagai bakteri pembusuk, *Morganella morganii* sebagai bakteri pembentuk histamin, dan *Escherichia coli* sebagai bakteri patogen.

Metode yang digunakan adalah metode sumur agar (*well diffusion agar*) (Wolf dan Gibbons, 1996 dalam Wiryawan *et al.*, 2003). Karena bakteri asam laktat merupakan makhluk hidup sehingga membutuhkan ruang yang lebih luas untuk tumbuh. Metode sumur agar mempunyai daya tampung yang lebih besar dibanding menggunakan kertas cakram sehingga zona hambat yang terbentuk tidak melebar. Aktifitas hambat bakteri asam laktat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran (lubang) yang disebut zona hambat, ini dimungkinkan bakteri asam laktat mampu menghasilkan substansi antimikroba. Sumuran dibuat dengan diameter 0,7 cm.

Dari penelitian yang telah dilakukan, pembuatan media sumuran menggunakan teknik dua lapis (*double layer*), yaitu lapis pertama untuk penanaman bakteri uji dengan ketebalan 0,2 cm ( $\pm$  8 mL) dan lapis kedua dilakukan setelah lapis pertama agak memadat dengan ketebalan 0,4 cm ( $\pm$  16 mL). Uji ini dilakukan dengan 4 ulangan dan 1 kontrol, sebagai kontrol digunakan akuabides steril. Kedalaman dari setiap sumuran diasumsikan sama karena ujung dari batang sumuran (antena) telah diberi tanda batas. Resiko perbedaan hanya terletak pada saat pencungkulan dan untuk mengantisipasi itu maka volume inokulum bakteri asam laktat telah disama ratakan sebanyak 100  $\mu$ L, sehingga walaupun memiliki kedalaman yang sedikit berbeda namun isolat bakteri asam laktat yang diinokulum mempunyai volume atau jumlah yang sama. Sedangkan media yang digunakan pada pengujian ini adalah *nutrient broth soft* karena media ini mengandung semua senyawa esensial yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba. Secara umum menurut Pradhika (2008), *nutrient broth* merupakan media yang umum digunakan sebagai medium pertumbuhan bakteri. Dengan demikian baik bakteri asam laktat maupun bakteri uji dapat tumbuh dengan baik pada media ini.

Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa dari 12 isolat bakteri asam laktat yang menghasilkan zona hambat terbaik adalah isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> dan To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub>, dapat dilihat pada Gambar 5. Pada N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> aktifitas hambat terbaik terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 1,40 cm, aktifitas hambat terbaik terhadap *Morganella morganii* sebesar 1,05 cm, dan aktifitas hambat terbaik terhadap *Escherichia coli* sebesar 0,56 cm. Sedangkan pada To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub>, aktifitas hambat terbaik terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 1,25 cm, aktifitas hambat terbaik terhadap *Morganella morganii* sebesar 1,08 cm, dan aktifitas hambat terbaik terhadap *Escherichia coli* sebesar 0,90 cm.



Gambar 2. Zona hambat pada isolat (a)  $N^{10^5}_2$  dan (b)  $To^{10^5}$ ,

Kedua isolat ini dinyatakan sebagai isolat terbaik karena mempunyai aktifitas zona hambat terbesar terhadap ketiga bakteri uji dibandingkan isolat lainnya. Menurut Misgiyarta dan Widowati (2002), bakteri asam laktat dinyatakan memiliki kemampuan unggul apabila menghasilkan zona hambat terbesar, semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin unggul pula bakteri asam laktat itu dalam menghambat aktifitas hidup bakteri uji. Kemampuan penghambatan dimungkinkan karena adanya substansi antimikroba (asam laktat maupun bakteriosin) yang dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii*, dan *Escherichia coli*. Selanjutnya perbedaan aktifitas hambat dimungkinkan karena perbedaan metabolisme glukosa yang dihasilkan bakteri asam laktat, ada yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif, serta sifat bakteriosin yang hanya mampu menghambat bakteri tertentu. Produk dari bakteri asam laktat heterofermentatif adalah asam asetat, asam laktat, asam format, asam suksinat,  $CO_2$ , dan etanol dalam jumlah yang sangat besar, sedangkan bakteri asam laktat homofermentatif mengubah 95% glukosa menjadi asam laktat (Jenie, 1996 dalam Rahmadi, 2007). Sedangkan isolat yang tidak membentuk zona hambat dimungkinkan karena tidak mampu menghasilkan metabolit yang optimum dalam menghambat bakteri uji. Diduga diantara hasil metabolisme bakteri asam laktat yang mampu menghambat bakteri uji yaitu asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin.

Tabel 4. Diameter zona penghambat bakteri asam laktat terhadap bakteri uji

Isolat	Diameter Zona Hambat BAL (cm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>M. organii</i>	<i>E. coli</i>
N <sup>2</sup> 10 <sup>3</sup>	1,35	1,05	0,50
N <sup>1</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>1</sub>	-	-	-
N <sup>1</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>2</sub> •	1,40	1,05	0,56
N <sup>2</sup> 10 <sup>5</sup>	-	1,30	0,63
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>1</sub>	1,30	-	-
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>2</sub>	-	0,85	-
To <sup>1</sup> 10 <sup>3</sup> <sub>3</sub>	2,10	-	-
To <sup>2</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>1</sub>	-	-	-
To <sup>2</sup> 10 <sup>4</sup> <sub>2</sub>	1,55	0,85	0,18
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>1</sub>	1,25	1,08	0,90
•	1,40	0,85	0,14
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>2</sub>	1,75	-	-
To <sup>1</sup> 10 <sup>5</sup> <sub>3</sub>	-	-	-

Keterangan:

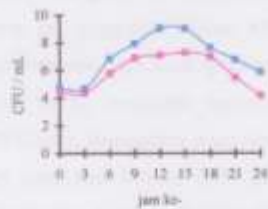
• = isolat terbaik

Menurut Ray (1992) dalam Wahyudi (2009), perbedaan aktifitas hambat bakteri asam laktat dimungkinkan berasal dari beragamnya bakteriosin yang dihasilkan oleh spesies bakteri asam laktat, seperti bakteriosin yang telah dikarakterisasi pada *Lactobacillus brevis* yaitu *brevicin* mampu menghambat dengan baik *Staphylococcus aureus*, bakteriosin pada *Lactobacillus plantarum* yaitu *plantaricin* juga mampu menghambat *S. aureus* (Daly et al., 1972, Jenie dan Rini, 1996 dalam Rahmadi 2007), bakteriosin pada *Lactococcus lactis* yaitu *nisin* mampu menghambat *Escherichia coli* (Usmiati, 2009), sedangkan bakteriosin pada *Pediococcus acidilactici* F-11 yaitu *pediosin* mampu menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri pembentuk histamin (Rinto, 2010), dan bakteriosin pada *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus* TGR-2 juga memiliki aktivitas anti mikroba yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, *E. coli* FNCC 0091, *Morganella organii* FNCC 0122, *Salmonella typhimurium* FNCC 0050, dan *Bacillus cereus* FNCC 0057 (Lestari, 2009).

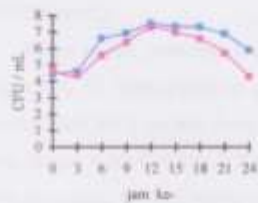
Selanjutnya Spillman *et al.* (1978) dalam Rahmadi (2007) menyatakan bahwa, bakteri asam laktat pada *Lactobacillus spp.* yang diisolasi dari yoghurt komersial, dapat menghambat *Bacillus subtilis*, *E.coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *S.aureus*. Tabel 4 menunjukkan kemampuan dari 12 isolat bakteri asam laktat dalam menghambat aktifitas hidup bakteri uji.

#### D. Pola Pertumbuhan BAL pada Suhu Ruang 30 °C dan Suhu Dingin 0-5 °C

Kurva pertumbuhan isolat  $N^1 10^4_2$  dan  $To^1 10^5_1$  pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C terlihat secara berturut-turut pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri dari isolat  $N^1 10^4_2$  (-■- suhu ruang 30°C, -■- suhu dingin 5°C)



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri dari isolat  $To^1 10^5_1$  (-■- suhu ruang 30°C, -■- suhu dingin 5°C)

Pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai pertambahan jumlah sel mikroba itu sendiri yang disebut dengan pola pertumbuhan yang biasa disajikan dalam bentuk kurva. Kurva pertumbuhan mikroba dalam suatu medium terdiri dari empat fase yang berbeda, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian (Brooks *et al.*, 2001). Kurva pertumbuhan bakteri sangat penting untuk menggambarkan karakteristik pertumbuhan suatu bakteri sehingga akan mempermudah dalam kultivasi (menumbuhkan) bakteri dalam media, penyimpanan kultivasi dan penggantian media (Anonim, 2006).

Dari kurva pertumbuhan pada Gambar 6 dan 7, menunjukkan bahwa isolat  $N^110^4_2$  dan  $To^110^5_1$  memiliki perbedaan pada grafik pertumbuhan disetiap selang waktu yang sama dengan suhu yang berbeda. Pada isolat  $N^110^4_2$  untuk suhu ruang 30 °C menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai jam ke-3 terjadi fase lag (populasi bakteri 4,67 CFU/mL); Fase eksponensial terjadi setelah jam ke-3 sampai jam ke-9 (populasi bakteri 9,02 CFU/mL); Fase stasioner terjadi pada jam ke-12 populasi bakteri mencapai maksimum sampai jam ke-15 (9,01 CFU/mL); Kemudian mengalami fase kematian setelah jam ke-15 sampai jam ke-24 (populasi bakteri 5,86 CFU/mL). Sedangkan pada isolat  $N^110^4_2$  untuk suhu dingin 0-5 °C menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai jam ke-3 terjadi fase lag (populasi bakteri 4,34 CFU/mL); Fase eksponensial terjadi setelah jam ke-3 sampai jam ke-9 (populasi bakteri 6,89 CFU/mL); Fase stasioner terjadi pada jam ke-15 dengan populasi bakteri mencapai maksimum (6,97 CFU/mL); Selanjutnya mengalami fase kematian setelah jam ke-15 sampai jam ke-24 (populasi bakteri 4,15 CFU/mL).

Pada kurva pertumbuhan isolat  $To^110^5_1$ , untuk suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C menunjukkan pola pertumbuhan yang sama, yaitu pada jam ke-0 sampai jam ke-3 terjadi fase lag (populasi bakteri suhu ruang 4,58 CFU/mL dan suhu dingin 4,33 CFU/mL); Fase eksponensial terjadi setelah jam ke-3 sampai jam ke-9 (populasi bakteri suhu ruang 6,91 CFU/mL dan suhu dingin 6,36 CFU/mL); Fase stasioner terjadi pada jam ke-12 dengan populasi bakteri mencapai maksimum (suhu ruang 7,51 CFU/mL dan suhu dingin 7,26 CFU/mL); Kemudian mengalami fase kematian setelah jam ke-12 sampai jam ke-24 (populasi bakteri suhu ruang 5,88 CFU/mL dan suhu dingin 4,28 CFU/mL). Nilai logaritmik bakteri

pada pola pertumbuhan isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> dan To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub>, selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Menurut Brooks *et al.* (2001), pada fase lag suatu bakteri masih mengalami adaptasi untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap, tetapi kadang-kadang menurun. Fase eksponensial menunjukkan sel bakteri membelah dengan cepat dan konstan, di mana penambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan. Fase stasioner menunjukkan jumlah bakteri yang berkembangbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati sehingga kurva menunjukkan garis yang hampir horizontal. Hal ini terjadi karena penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrient yang mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga walaupun terjadi pertumbuhan beberapa bakteri mati. Pada fase kematian menunjukkan bakteri yang mati semakin banyak dan jumlahnya melebihi bakteri yang membelah diri. Hal ini ditandai dengan grafik yang mulai menurun. Pada fase ini bakteri mati diakibatkan karena terjadinya penumpukan racun dan kehabisan nutrisi, sehingga jumlah bakteri yang mati lebih banyak dan mengalami penurunan jumlah bakteri (Anonim, 2006).

Dari hasil pengamatan dapat dilihat pada masing-masing isolat bakteri asam laktat untuk suhu dingin 0-5 °C menunjukkan populasi bakteri yang lebih sedikit dibandingkan suhu ruang 30 °C. Artinya pertumbuhan suatu bakteri akan berlangsung lebih lambat jika dilakukan pada kondisi suhu yang lebih rendah karena metabolisme sel terganggu. Metabolisme sel dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu enzim. Menurut Pradhika (2008), suhu merupakan faktor lingkungan yang sangat menentukan kelangsungan hidup bakteri karena suhu sangat berhubungan dengan aktifitas enzim. Metabolisme sel bakteri pada suhu ruang berbeda dengan suhu dingin. Pada suhu ruang aktifitas enzim dapat bekerja dengan baik dan metabolisme berlangsung secara normal sehingga pertumbuhan bakteri optimal dan dihasilkan jumlah bakteri yang maksimal.

sedangkan pada suhu dingin aktifitas enzim menurun namun masih dapat bekerja dan mengurangi laju metabolisme sehingga mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri itu sendiri akibatnya pertumbuhan bakteri tidak optimal.

Berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat, diketahui bahwa laju pertumbuhan isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> pada suhu ruang 30 °C tumbuh optimum pada jam ke-12, sedangkan pada suhu dingin 0-5 °C tumbuh optimum pada jam ke-15. Laju pertumbuhan bakteri pada suhu ruang 30 °C lebih cepat dibandingkan pada suhu dingin 0-5 °C, ini dapat dilihat dari persamaan grafik pertumbuhan pada Lampiran 5. Perbedaan waktu optimum ini terjadi karena kemampuan bakteri dalam berkembangbiak berlangsung lebih lambat seiring dengan semakin rendahnya suhu.

Untuk isolat To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub> pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C tumbuh optimum pada waktu yang sama, yaitu terjadi pada jam ke-12. Hal ini bisa saja terjadi karena ada beberapa jenis bakteri yang dapat hidup pada suhu ruang maupun suhu dingin. Balia (2009) menyatakan, beberapa genus bakteri asam laktat, yaitu *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* mampu hidup pada suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 5 °C.

Dari data-data di atas dapat diketahui bahwa bakteri asam laktat isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> pada suhu dingin 0-5 °C memiliki laju pertumbuhan yang lebih lambat, namun bakteri ini masih dapat tumbuh. Sehingga baik isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> dan To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub> memungkinkan untuk dapat digunakan sebagai penghambat bakteri yang merugikan pada pengawetan produk olahan.

#### KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Berhasil diperoleh sebanyak 12 isolat bakteri asam laktat dari sampel saluran pencernaan ikan nila dan tongkol.
2. Dari 12 isolat bakteri asam laktat diperoleh 2 isolat terbaik yang mampu menekan pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Morganella morganii*, dan *Escherichia coli* melalui uji antagonis dengan metode sumur agar (*well diffusion agar*), yaitu isolat N<sup>1</sup>10<sup>4</sup><sub>2</sub> dan To<sup>1</sup>10<sup>5</sup><sub>1</sub>.



3. Isolat bakteri asam laktat  $N^{10^4}$  dan  $To^{10^5}$ , mampu tumbuh pada kondisi suhu ruang 30 °C dan suhu dingin 0-5 °C, dimana laju pertumbuhan bakteri pada suhu dingin 0-5 °C lebih lambat. Hal ini ditunjukkan dengan populasi bakteri yang lebih sedikit dibanding suhu ruang 30 °C.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Axelsson, L. 1993. Lactic Acid Bacteria: classification and physiology. *In* Lactic Acid bacteria, Microbiology and Functional Aspects 2<sup>nd</sup> edition, Salminen, S. and vonne Wright, A. (Eds.), Marcel Dekker, Inc. New York.
- Balla, R.L. 2009. Mikrobiologi Pangan. (Online). (<http://www.pdf4free.com>, diakses tanggal 17 November 2009).
- Brooks G.F., J.S. Butel., and A.S. Morse. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Feliatra, I. Efendi, dan E. Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *J Natur Indonesia* 6(2):75-80.
- Hassan, Z.H. 2006. Isolasi *Lactobacillus*, Bakteri Asam Laktat dari Feses dan Organ Saluran Pencernaan Ayam. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lestari, L.A. 2009. Potensi Probiotik Lokal sebagai Makanan Fungsional Pencegah Diare. (Online). (<http://www.gizikesehatan.ugm.ac.id/content/view/127/77/>, diakses tanggal 09 November 2009).
- Misgyarta dan S. Widowati. 2002. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Indigenus. Balai Penelitian Biogenik dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Pradhika, E.I. 2008. Isolasi Mikroorganisme. (Online). (<http://www.Literatur/MikroBa-nget/Bab4IsolasiMikroorganisme.html>, diakses tanggal 29 Juni 2009).
- Rinto. 2006. Perubahan Kandungan Mikroflora Akibat Penambahan Starter *Pediococcus acidilactici* F-11 dan Garam selama Fermentasi Peda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* Vol. XIII No. 1. Tahun 2010.

- Usmiati, S. 2009. Penggunaan Bakteriosin untuk Mempertahankan Kesegaran Daging Ayam. (Online). (<http://pascapanen.litbang.deptan.go.id/>, diakses tanggal 17 Oktober 2009).
- Wiryawan K.G., A.S. Tjakradidjaja., R. Ratih., dan E.D. Janingrum. 2003. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Antimikroba. *J Veteriner* 4(3).



