

POTENSI SENYAWA METABOLIT YANG DIHASILKAN *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014  
SEBAGAI BAHAN BIOPRESERVASI DAN ANTI BAKTERI  
PADA BAHAN PANGAN ASAL HEWAN

(Potential of Metabolites Compounds Produced by *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 as  
Biopreservatives and Anti-bacterial Materials in Animal Food Products)

Akhmad Hidayatulloh<sup>1</sup>, Jajang Gumilar<sup>2</sup>, Ellin Harlia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Mikrobiologi dan Penanganan Limbah Peternakan,

<sup>2</sup>Laboratorium Teknologi Pengolahan Produk Peternakan

Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung – Sumedang KM 21 Jatinangor 45363 Sumedang Jawa Barat Indonesia

Email: hidayatulloh@unpad.ac.id

### ABSTRACT

*Lactobacillus plantarum* is a probiotic-lactic acid bacteria that normally lives in the human digestive tract. These bacteria are known to produce metabolites that have inhibitory activity against pathogenic bacteria and food spoilage. Therefore, the metabolites produced by *L. plantarum* was potential to be used as a biopreservation for animal food products, especially milk and meat. In order to obtain accurate data about the optimal production time of these metabolites and their antibacterial activity, the growth curve of *L. plantarum* which was incubated up to 48 hours at 37°C and 5.0% of CO<sub>2</sub> was observed. Observations were also made on the inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*) which are often found in meat and milk. The results showed that the metabolites produced during the incubation process can inhibit Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria. The best production of metabolites is at the 24<sup>th</sup> hour which shows the diameter of the inhibition zone of 11.9 mm for *L. monocytogenes*; 11.6 mm for *E. coli*; 12.5 mm for *S. typhimurium*; and 9.1 mm for *S. aureus*. Therefore, the production process of biopreservation for food from the results of *L. plantarum*'s metabolism has a potential to be developed and applied to food of animal origin, especially milk and meat.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum*, metabolites, biopreservation, anti-bacterial, pathogenic bacteria.

### ABSTRAK

*Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri asam laktat probiotik yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan manusia. Bakteri ini diketahui dapat menghasilkan senyawa metabolit yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen dan pembusuk pangan. Oleh karena itu senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *L. plantarum* memiliki potensi sebagai bahan biopreservasi untuk bahan pangan asal hewan khususnya susu dan daging. Guna mendapatkan data akurat tentang waktu optimal produksi senyawa metabolit tersebut dan aktivitas antibakterinya maka kurva pertumbuhan *L. plantarum* yang diinkubasi hingga 48 jam pada suhu 37 °C dan konsentrasi CO<sub>2</sub> sebanyak 5,0% diamati. Pengamatan juga dilakukan terhadap daya hambat bakteri patogen Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*) dan Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*) yang sering ditemukan pada daging dan susu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa metabolit yang dihasilkan selama proses inkubasi dapat menghambat bakteri patogen Gram negatif dan Gram positif. Produksi senyawa metabolit terbaik yaitu pada jam ke-24 yang menunjukkan diameter zona hambat sebesar 11,9 mm untuk *L. monocytogenes*; 11,6 mm untuk *E. coli*; 12,5 mm untuk *S. typhimurium*; dan 9,1 mm untuk *S. aureus*. Oleh karena itu proses produksi bahan biopreservasi untuk bahan pangan dari hasil metabolisme *L. plantarum* berpotensi untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada bahan pangan asal hewan khususnya susu dan daging.

**Kata kunci :** *Lactobacillus plantarum*, senyawa metabolit, bahan biopreservasi, anti bakteri, bakteri patogen.

## PENDAHULUAN

*Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) yakni bakteri yang dapat membentuk asam laktat sebagai hasil metabolisme gula. Bakteri asam laktat diketahui yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk, oleh karena itu BAL telah banyak digunakan sebagai bahan pengawet alami pada bahan makanan (Bassi *et al.* 2009; Akbar dan Anal, 2014).

BAL dapat digunakan sebagai bahan pengawet karena selama proses fermentasi menghasilkan metabolit primer yaitu asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen secara langsung dengan menurunnya nilai pH. Selain itu BAL juga menghasilkan metabolit sekunder yang juga turut andil dalam menghambat pertumbuhan senyawa patogen diantaranya adalah hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), asam lemak hidroksil, diasetil, reutrin, dan senyawa protein (bakteriosin, tripsin, peptida) (Dalie, *et al.* 2010).

*Lactobacillus plantarum* tergolong ke dalam filum Firmicutes, ordo Lactobacillales, famili Lactobacillaceae, dan genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus plantarum* berbentuk batang dengan ukuran 0,9-1,2 hingga 1,0-8,0 µm, berbentuk tunggal ataupun berpasangan dalam rantai yang pendek (Todorov dan Franco, 2010).

*Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri Gram positif yang sebagian besar dapat ditemukan di susu, daging, sayuran fermentasi, dan saluran pencernaan manusia. *Lactobacillus plantarum* dapat hidup dalam kondisi anaerobik fakultatif atau dengan kata lain bakteri tersebut dapat tumbuh baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Dalam keadaan aerob, *Lactobacillus plantarum* dapat mengonversi oksigen menjadi peroksida. Dalam keadaan anaerob *L. plantarum* mampu melakukan fermentasi dengan mengubah gula menjadi asam laktat atau alkohol dalam kondisi heterofermentatif (Puspawati, *et al.* 2011). *Lactobacillus plantarum* menunjukkan efektivitas yang baik dalam menekan pertumbuhan *Listeria innocua* pada proses pembuatan keju dengan bahan dasar susu pasteurisasi tanpa adanya penambahan nisin (Mills, *et al.* 2011).

*L. plantarum* dengan kode ATCC 8014 merupakan salah satu strain murni *L. plantarum* yang dimiliki oleh ATCC. ATCC atau *American Type Culture Collection* merupakan organisasi non-profit yang bergerak dalam bidang koleksi dan distribusi kultur mikroba terutama bakteri.

*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 merupakan isolat yang berasal dari silase jagung yang ditemukan dan dimurnikan pada tahun 1980. Penggunaan *L. plantarum* sebagai anti bakteri telah banyak dikaji karena memiliki potensi yang besar jika dikembangkan secara massal. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan data akurat tentang waktu optimal produksi senyawa metabolit dari *L. plantarum* dan mempelajari aktivitas daya hambat terhadap bakteri patogen Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*) dan Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*).

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan secara eksploratif. Data yang didapatkan dari penelitian ini disajikan secara deskriptif. Isolat *L. plantarum* ATCC®8014™ diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran dalam media agar miring MRS Agar. Penelitian diawali dengan pembuatan inokulum, kemudian dilanjutkan dengan pengamatan kurva pertumbuhan, pengukuran pH, dan diakhiri pengujian zona hambat dari senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *L. plantarum*.

Pembuatan Inokulum dilakukan menambahkan sebanyak satu loop isolat *L. plantarum* ATCC 8014 dari agar miring pada 5 mL media MRS Broth dalam tabung reaksi steril yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan konsentrasi CO<sub>2</sub> 5%. Sebanyak 5 µL inokulum yang berumur 24 jam tersebut diinokulasikan ke dalam masing masing tabung reaksi berisi 5 mL media MRS Broth dengan jumlah tabung 12 buah. Masing masing tabung reaksi tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan konsentrasi CO<sub>2</sub> 5% dengan masa inkubasi yang bervariasi. Masa inkubasi dari masing masing tabung yakni 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, dan 48 jam. Setelah masa inkubasi dari masing masing tabung selesai, sampel siap untuk diuji berdasarkan parameter yang telah ditentukan (Modifikasi Gong, *et al.* 2010).

Kurva pertumbuhan *L. plantarum* didapat dari pengukuran kerapatan optikal atau *Optical Density* (OD) setiap 3 jam selama 48 jam (12 titik pengamatan) dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Kemudian, dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter

terhadap sampel yang telah diketahui nilai kerapatan optikalnya.

Pengujian zona hambat senyawa metabolit *L. plantarum* dimulai dengan ekstraksi senyawa metabolit. Sebanyak 2 mL sampel dari masing masing tabung reaksi yang telah selesai masa inkubasinya dimasukkan ke dalam *microtube* dan disentrifugasi dengan kecepatan 12500 rpm (*revolution per minutes*) selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan dikoleksi dan disaring menggunakan membran dengan diameter 0,2 mikron sehingga supernatan bebas dari *life cell*. Supernatan yang mengandung senyawa metabolit tersebut kemudian digunakan sebagai sampel uji zona hambat.

Bakteri patogen yakni *Escherichia coli* ATCC® 11229™, *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™ *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ dan *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538™ diencerkan dengan mencampurkan satu ose biakan bakteri uji ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan menggunakan *vorteks*. Kekeruhan dari larutan uji distandarisasi menggunakan larutan McFarland 0,5 yang setara dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$ /mL. Bakteri uji tersebut kemudian disebarkan diatas permukaan media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan kapas *swab* steril. Kertas cakram yang digunakan berdiameter 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap cakram. Kertas cakram direndam dalam larutan ekstrak kurang lebih 20 µL kemudian diletakkan pada permukaan media NA. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan mikroba terhadap ekstrak senyawa metabolit *L. plantarum* yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Setelah inkubasi selesai kemudian diukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (Venkadesan dan Sumathi, 2015).

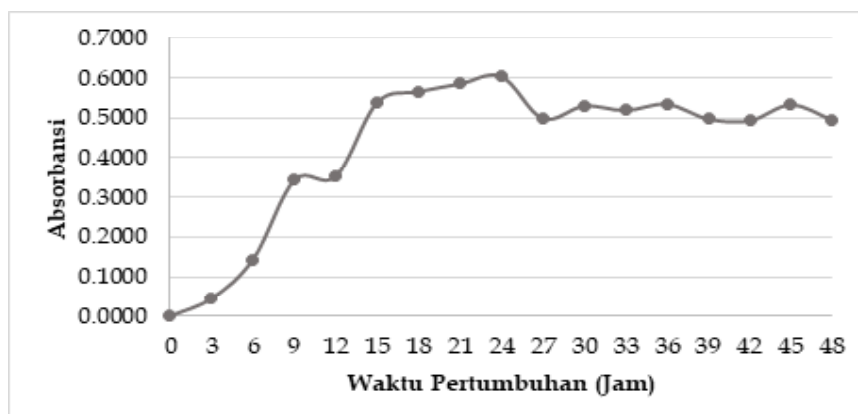
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kurva Pertumbuhan *L. plantarum* ATCC 8014

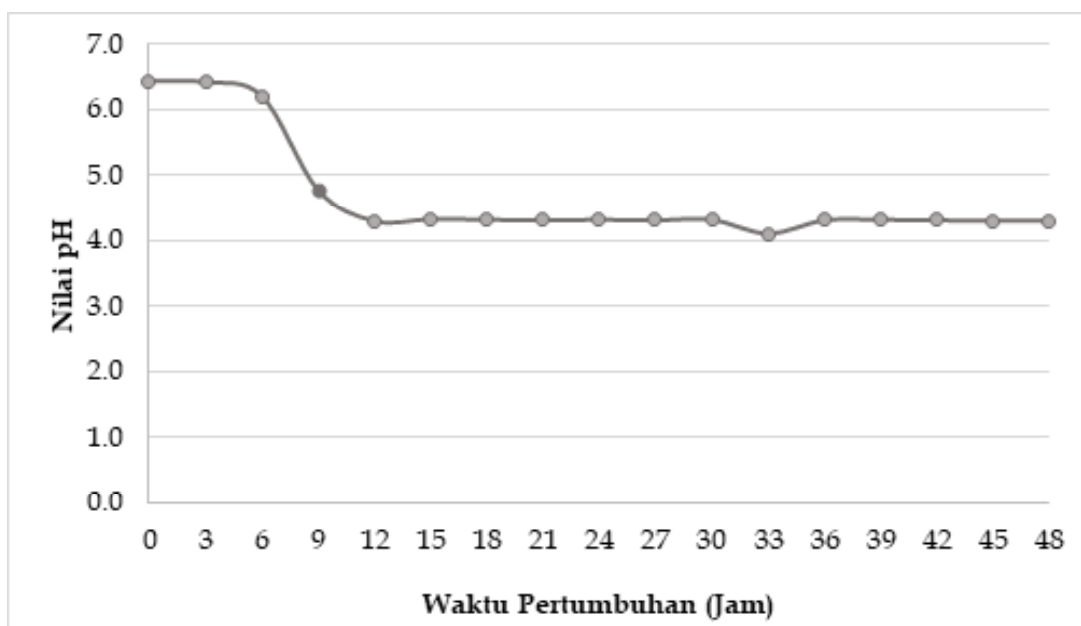
Kurva pertumbuhan *L. plantarum* yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 1. Pengamatan pada kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa pertumbuhan *L. plantarum* selama 48 jam terdiri dari tiga fase yaitu fase lag, fase log, dan fase stasioner. Hal tersebut sesuai dengan kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya (Wang, *et al.* 2015).

Kurva pertumbuhan *L. plantarum* dimulai dengan fase lag (adaptasi) pada jam ke-0 sampai jam ke-3. Pada fase ini bakteri melakukan penyesuaian diri terhadap lingkungan yang baru. Fase adaptasi berada dalam rentang waktu yang singkat dikarenakan media yang digunakan untuk pertumbuhan sama dengan media yang digunakan untuk peremajaan. Menurut Puspawati, *et al.* (2010), selama fase lag bakteri tidak hanya bertambah biomasanya, ukuran sel bakteri juga mengalami peningkatan serta terjadi pula perubahan komposisi kimia dari bakteri tersebut.

Fase berikutnya yaitu fase logaritmik (fase pertumbuhan) terjadi mulai jam ke-3 sampai jam ke-24. Pada fase ini, pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat, bakteri memperbanyak diri dengan cepat dan konstan menjadi dua kali populasi sebelumnya. Pada fase ini kebutuhan energi juga meningkat dibandingkan dengan pada fase adaptasi. Pada fase logaritmik hingga awal fase stasioner umumnya dihasilkan senyawa metabolit primer yang diproduksi yaitu asam laktat, asam asetat dan hidrogen peroksida. Selanjutnya pada jam ke-24 sampai jam ke-48 kurva pertumbuhan relatif tetap. Pada fase ini merupakan fase stasioner dimana jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase stasioner



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *L. plantarum* ATCC 8014



Gambar 2. Kurva waktu pertumbuhan terhadap nilai pH

ukuran sel menjadi lebih kecil meskipun nutrisi sudah berkurang (Kumar, *et al.* 2010).

Kurva pertumbuhan digunakan untuk menentukan waktu optimal *L. plantarum* dalam memproduksi senyawa metabolit yang bersifat anti bakteri. Suspensi bakteri semakin keruh dengan bertambahnya waktu inkubasi, hal ini menandakan semakin banyak jumlah bakteri yang tumbuh. Dari hasil pengukuran OD, bakteri *L. plantarum* memperlihatkan adanya perbedaan tingkat kepadatan bakteri selama masa inkubasi. Dengan meningkatnya pertumbuhan *L. plantarum* maka meningkat pula nilai OD selama masa inkubasi yang sejalan dengan peningkatan jumlah biomasanya. Meningkatnya jumlah biomassa akan meningkatkan jumlah senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *L. plantarum*.

#### Pengaruh Pertumbuhan *L. plantarum* ATCC 8014 terhadap pH

Berdasarkan hasil pengamatan pH pada setiap titik kurva pertumbuhan *L. plantarum*, dihasilkan kurva nilai pH berdasarkan pertumbuhan *L. plantarum* seperti pada Gambar 2. Nilai pH memperlihatkan pengaruh pertumbuhan *L. plantarum* dan produk yang dihasilkan.

Penurunan Perubahan nilai pH terjadi mulai jam ke-6, hal tersebut terjadi karena bakteri telah memasuki fase logaritmik. Dalam fase logaritmik terjadi akumulasi asam laktat dan asam-asam organik hasil hidrolisis lemak dan hasil metabolisme. Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi asam adalah faktor

Tabel 1. Uji daya hambat metabolit dari *L. plantarum* ATCC 8014 terhadap bakteri patogen Gram negatif dan Gram positif

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>
Antibiotik	41,8	28,1	37,1	30,4
15 Jam	12,2	9,70	91,0	9,20
18 Jam	14,0	11,7	11,1	9,50
21 Jam	11,8	10,1	11,4	8,20
24 Jam	11,9	11,6	12,5	9,10

lingkungan yaitu pH dan suhu. Setiap spesies mikroba bahkan strain dapat memiliki nilai pH dan suhu optimum yang berbeda (Abdel-Rahman *et al.* 2013).

#### Aktivitas anti bakteri *L. plantarum* ATCC 8014

Berdasarkan hasil uji zona hambat senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *L. plantarum* terhadap bakteri patogen Gram negatif dan positif, didapatkan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pengujian menunjukkan daya hambat terbaik didapatkan dari *L. plantarum* yang diinkubasi selama 15, 18, 21, dan 24 jam. Sampel senyawa metabolit tersebut berada dalam fasa logaritmik. Produksi senyawa metabolit sejalan dengan pertumbuhan bakteri. Diketahui senyawa metabolit mulai terbentuk saat memasuki tengah fase eksponensial dan menurun produksinya pada fase stasioner (Ruiz *et al.* 2010).

Zona hambat yang dihasilkan oleh senyawa metabolit *L. Plantarum* terhadap bakteri patogen Gram negatif dan positif merupakan akibat dari adanya metabolit primer yaitu asam laktat, etanol, diasetil, dan karbondioksida maupun karena adanya metabolit sekunder yaitu bakteriosin dan senyawa hidrogen peroksida (Maurya dan Thakur, 2012). Berdasarkan luas area yang terbentuk, terdapat 4 kategori kekuatan zona hambat bakteri yakni diameter 5-9 mm mempunyai kekuatan daya hambat lemah, diameter 10-14 mm kekuatan daya hambat sedang, diameter 15-20 mm kekuatan daya hambat kuat, > 21 mm kekuatan daya hambat sangat kuat (Nandi, *et al.* 2017). Data di atas menunjukkan bahwa senyawa metabolit *L. plantarum* tersebut memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen dengan kekuatan sedang.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Bakteri *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 dapat menghasilkan senyawa metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri yang digolongkan ke dalam bahan yang memiliki daya hambat dengan kekuatan sedang. Senyawa metabolit dari *L. plantarum* dihasilkan secara optimal pada fase logaritmik yakni 15-24 jam masa inkubasi. Senyawa metabolit dari *L. plantarum* dapat menghambat bakteri patogen Gram positif dan negatif yang sering ditemukan dalam bahan pangan asal hewani terutama daging dan susu, sehingga memiliki potensi yang

cukup baik untuk dikaji lebih mendalam terkait penggunaannya secara langsung pada bahan pangan asal hewani.

Proses produksi bahan biopreservasi untuk bahan pangan dari hasil metabolisme *L. plantarum* berpotensi untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada bahan pangan asal hewan khususnya susu dan daging.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rahman, M.A., Y. Tashiro, and K. Sonomoto. 2013. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol. Adv.*, 31: 877-02.
- Akbar, A. and A.K. Anal. 2014. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and evaluation of anti-staphylococcal activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in ready-to-eat poultry meat. *Ann. Microbiol.*, 64(1): 131-138.
- Bassi, E.L., M. Hassouna, N. Shinzato, and T. Matsui. 2009. Biopreservation of refrigerated and vacuum-packed *Dicentrarchus labrax* by lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* 6(74): M335-M339.
- Dalie, D.K.D., A.M. Deschamps, and F. Richard-Forget. 2010. Lactic acid bacteria: potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Control.* 21: 370-380.
- Gong, H.S., X.C. Meng, and H. Wang. 2010. Plantaricin MG active against gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from "Jiaoke", a traditional fermented cream from China. *Food control*, 21(1): 89-96.
- Kumar, M., S.K. Tiwari, and S. Srivastava. 2010. Purification and characterization of enterocin LR/6, a bacteriocin from *Enterococcus faecium* LR/6. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 160: 40-49.
- Maurya, A.P. and R.L. Thakur. 2012. Inhibition spectrum, purification and characterization of bacteriocin from *Leuconostoc* NT-1. *Curr Sci.*, 103(12): 1405-1407
- Mills, S., L. Serrano, C. Griffin, P.M. O'connor, G. Schaad, and C. Bruining. 2011. Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG P-26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese. *Microbial Cell Factories.* 10(1): S7.

- Nandi, A., S.K. Dan, G. Banerjee, K. Ghosh, E. Ringo, and A.K. Ray. 2017. Probiotic potential of autochthonous bacteria isolated from the gastrointestinal tract of four freshwater teleost. *Probiotics Antimicro Prot.* 9(1) : 12-21.
- Puspadewi, R., A. Putranti dan A. Gina. 2011. Aktifitas metabolit bakteri *Lactobacillus plantarum* dan peranannya dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan. Prosiding Konferensi Nasional Sains. Fakultas MIPA Universitas Jenderal Achmad Yani. Cimahi.
- Puspawati, N.N., L. Nuraida, dan D.R. Adawiyah. 2010. Penggunaan berbagai jenis bahan pelindung untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat yang diisolasi dari air susu ibu pada proses pengeringan beku. *J. Teknol. Ind. Pangan*, 1: 59-65.
- Ruiz, B., A. Chávez, A. Forero, Y. García-Huante, A. Romero, and M. Sánchez. 2010. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Crit. Rev. Microbiol.*, 36: 146-167.
- Todorov, S. D. dan B. D. G. D. M. Franco. 2010. *Lactobacillus plantarum*: characterization of the species and application in food production. *Food Reviews International*, 26(3): 205-229.
- Venkadesan, D. and V. Sumathi . 2015. Screening of lactic acid bacteria for their antibacterial activity against milk borne pathogens. *International Journal of Applied Research*, 1(11): 970-973.
- Wang, L., D. Fan, W. Chen, and E.M. Terentjev. 2015. Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. *Sci. Rep.*, 5: 15159.