

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI MAKANAN TRADISIONAL
PAKASAM IKAN KAPIEK (*Barbonymus schwanenfeldii*) YANG
BERPOTENSI SEBAGAI KANDIDAT AGEN PROBIOTIK,
ANTIBAKTERI DAN BIOPRESERVATIF**

Cici Sri Wahyuni¹, Tetty Marta Linda², Bernadeta Leni Fibriarti³

Universitas Riau^{1,2,3}

tetty.martalinda@lecturer.unri.ac.id²

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari makanan fermentasi tradisional pakasam ikan kapie (*Barbonymus schwanenfeldii*) asal Desa Pangkalan Serai, Kampar Kiri Hulu, Riau yang memiliki aktivitas antibakteri dan kandidat agen biopreservatif. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah mengisolasi, karakterisasi parsial, uji aktivitas antibakteri, dan uji biopreservatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi dan karakterisasi awal dari pakasam diperoleh 2 isolat (isolat P1 dan isolat P2) diketahui sebagai genus *Enterococcus* spp. dan 3 isolat (isolat P3, isolat P4 dan isolat P5) dari genus *Lactobacillus* spp. Isolat P5 potensial sebagai kandidat agen probiotik karena dapat tumbuh pada pH 3, kadar garam ekstrim, dan mempunyai aktivitas antibakteri yang berspektrum luas. Isolat P5 berpotensi sebagai kandidat agen biopreservatif karena mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 35128 sebesar $8,5 \pm 0,8$ mm dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sebesar $6,6 \pm 0,1$ mm setelah supernatan bebas selnya dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat, Biopreservatif, Pakasam, Probiotik

ABSTRACT

*This study aims to isolate Lactic Acid Bacteria (LAB) from traditional fermented food of kapie fish (*Barbonymus schwanenfeldii*) from Pangkalan Serai Village, Kampar Kiri Hulu, Riau which has antibacterial activity and is a candidate for biopreservative agent. The methods used in this study were isolation, partial characterization, antibacterial activity test, and biopreservative test. The results showed that the initial isolation and characterization of pakasam obtained 2 isolates (isolate P1 and isolate P2) known as the genus *Enterococcus* spp. and 3 isolates (isolate P3, isolate P4 and isolate P5) from the genus *Lactobacillus* spp. Isolate P5 has the potential as a candidate for probiotic agent because it can grow at pH 3, extreme salt content, and has broad-spectrum antibacterial activity. Isolate P5 has the potential as a candidate*

activity against Escherichia coli ATCC 35128 of 8.5 ± 0.8 mm and Staphylococcus aureus ATCC 29213 of 6.6 ± 0.1 mm after the cell-free supernatant was heated for 15 minutes at 100°C.

Key words: *Lactic Acid Bacteria, Pakasam, Probiotics, Biopreservative*

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk coccus atau batang, anaerob fakultatif, dan non-motil. BAL dapat menghasilkan beberapa senyawa antimikroba alami seperti asam organik, asam laktat dan asam asetat (Kustyawati, 2020), hidrogen peroksida (Suardana et al., 2017), enzim laktoperoksidase, lipopolisakarida (Yuniastuti, 2015), dan bakteriosin (Hairunnisa 2019). BAL mampu menghambat pertumbuhan patogen bawaan makanan (Ibrahim et al., 2021), memberi rasa asam dan aroma (Azara & Saidi, 2020), memberikan efek pengawetan makanan (Maryana, 2014), dan meningkatkan kandungan nutrisi makanan (Suri et al., 2018). Oleh sebab itu, BAL dipakai dalam industri pangan probiotik (Suyono et al., 2024).

Pangan probiotik adalah makanan atau minuman yang mengandung sejumlah bakteri hidup yang memberi efek menguntungkan bagi kesehatan (Rizal et al., 2016), mempunyai nilai nutrisi yang baik. Hasil penelitian Obadina et al. (2013) menunjukkan bahwa kandungan kalsium, zat besi, dan magnesium dalam susu kedelai yang difermentasi meningkat dari 52,86 menjadi 71,43, 28,00 menjadi 40,00, dan 7,66 menjadi 8,87 mg/l. Pangan probiotik juga mengandung antioksidan (A'yuni et al., 2020) dan menunjukkan adanya aktivitas zat antimikroba (Hafsan, 2014). Pangan probiotik dapat dihasilkan melalui proses fermentasi, seperti fermentasi yoghurt dan keju umumnya menggunakan kultur murni yang secara sengaja ditambahkan ke dalam makanan tersebut (Bintsis, 2018). Pangan probiotik dari makanan fermentasi tradisional, seperti dadih, fermentasi ikan seperti peda, terasi, dan fermentasi tauco dilakukan dengan bantuan BAL secara spontan dengan mengatur lingkungan pertumbuhan misalnya mengkondisikan menjadi anaerob atau dengan penambahan garam, sehingga bakteri lain yang tidak diinginkan tidak dapat tumbuh (Chalid et al., 2018; Anggraini et al., 2019).

Bakteri probiotik memiliki syarat yaitu bakterinya mampu bertahan hidup dan berkembang biak dalam saluran pencernaan, serta tahan terhadap lingkungan asam lambung dan garam empedu (Alang et al., 2020). Selain itu bakteri probiotik mampu menempel pada sel epitel usus manusia dan membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan (Aini et al., 2022). Syarat lainnya adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi, tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, dan tahan terhadap proses

psikokimia pada makanan (Yuniastuti 2014;2015). Syarat lain sebagai pangan probiotik adanya aktivitas zat antimikroba pada pangan probiotik yaitu produksi asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat, serta produksi hidrogen peroksida (Hafsan, 2014).

Makanan fermentasi tradisional disebut pangan probiotik karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat bakteri (Tamang et al., 2020). Isolat BAL dari makanan fermentasi cincalok asal Kalimantan Barat memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 8,67 mm (Novelia et al., 2020), isolat BAL dari ale-ale khas Kalimantan Barat memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* sebesar 5,42 mm (Sofiana et al., 2020), dan isolat BAL pada makanan botok ikan tongkol khas Kalimantan Barat yang teridentifikasi sebagai kelompok *Lactobacillus brevis* mempunyai zona hambatan terhadap bakteri patogen *E.coli* 9,9 mm, *Staphylococcus aureus* 10,0 mm, dan *Salmonella typhi* 8,5 mm (Hairunnisa, 2019). Masing-masing makanan fermentasi bervariasi kandungannya sesuai budaya, ras, negara, kondisi sosial, ekonomi, iklim, dan ketersediaan bahan baku disaat produksi.

Riau merupakan salah satu provinsi di Sumatera dengan kekayaan makanan tradisional fermentasi yang melimpah, seperti tempoyak dengan bahan dasar durian, sarobuung dengan bahan dasar rebung, dadih dengan bahan dasar susu sapi, cincalok dengan bahan dasarnya udang, dan pakasam dengan bahan dasar ikan. Riau mempunyai sungai dan termasuk daerah penghasil ikan, seperti ikan patin (*Pangasius Sp.*), ikan selais (*Kryptopterus lais*), dan ikan tengadak (*Barbonymus schwanenfeldii*) atau bahasa daerahnya adalah ikan kapie. Di Kampar Kiri Hulu, ikan kapie tersebut diolah menjadi pakasam. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan daya simpan, cita rasa, dan nilai nutrisinya (Marlina et al., 2018). Pakasam dapat dijumpai juga di daerah Kalimantan yang dikenal dengan nama wadi, dan ikan yang biasa digunakan disana adalah ikan patin (*Pangasius Sp.*) (Waty et al., 2019).

Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari pakasam asal Kalimantan Barat menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri pembentuk histamin antaranya *Citrobacter freundii* CK1 sebesar 28,06%, *Morganella morganii* TK7 sebesar 38,95%, dan *Raoultella ornithinolytica* TN1 sebesar 12,89% menggunakan metode makrodilusi (Cahyati & Putra, 2022). BAL dari pakasam menggunakan ikan kapie Riau masih sangat terbatas informasinya. Penelitian ini bertujuan mengisolasi BAL yang memiliki aktivitas antimikroba sehingga dapat digunakan sebagai pangan probiotik.

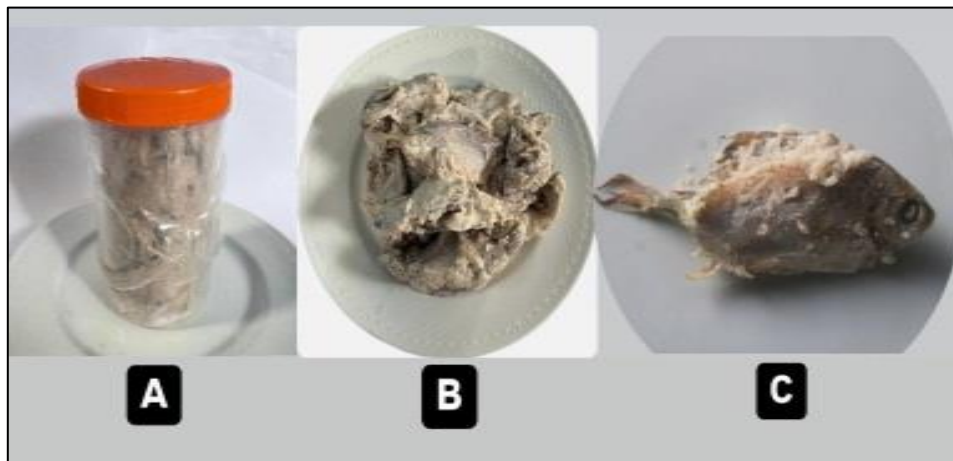
METODE PENELITIAN

Deskripsi Pakasam Ikan Kapie

Pakasam merupakan produk fermentasi spontan yang terbuat dari ikan air tawar, khususnya yaitu ikan kapie dengan tambahan garam dan sumber karbohidrat.

Proses fermentasi pakasam umumnya melibatkan bakteri asam laktat yang memproduksi berbagai senyawa yang berperan dalam pembentukan rasa dan aroma produk serta mencegah kerusakan/pembusukan produk (Astuti et al., 2021).

Pembuatan pakasam asal Kampar Kiri Hulu didapatkan informasinya dari hasil wawancara dengan salah seorang pembuat pakasam dari daerah tersebut. Pakasam yang digunakan dibuat dengan menggunakan ikan kapiék. Ikan kapiék sebanyak 1 kg disiangi dengan membuang bagian insang, dan isi perut. Ikan diiris bagian perutnya, lalu dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan hingga kering. Garam dan nasi putih ditambahkan sebanyak 15% dan 25% dari total berat ikan, kemudian diratakan ke seluruh tubuh ikan termasuk ke dalam perut ikan. Campuran ikan, garam dan nasi dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditutup rapat lalu difermentasi pada suhu ruang selama 8 hari. Ikan kapiék setelah difermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (A) Pakasam Ikan Kapiék pada Wadah Fermentasi, (B) Pakasam Ikan Kapiék sebanyak 1 kg, (C) Pakasam 1 Ekor Ikan Kapiék

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Pakasam

Sampel pakasam sebanyak 5 Gram diinokulasikan pada medium 50 ml *DeMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) (Himedia) dan diinkubasi pada incubator shaker selama 24 jam pada suhu 37°C. Diakhir inkubasi sebanyak 1 mL suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril kemudian dihomogenkan dengan vortex sebagai pengenceran 10^{-2} selanjutnya dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} . Sebanyak 1 mL suspensi sampel ditumbuhkan ke media *DeMan Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) + CaCO_3 dengan metode *pour plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri asam laktat ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media tersebut. Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan teknik streak kuadran, yang di sekitarnya terbentuk zona bening dimurnikan kembali pada medium MRSA dengan metode goresan sinambung lalu diinkubasi selama 24 jam. Penanaman dilakukan berulang pada medium dan kondisi yang sama

hingga didapatkan koloni tunggal. Isolat murni tersebut lalu dipindahkan pada agar miring sebagai stok dan disimpan di refrigerator pada suhu 4°C (Salsabilla & Trimulyono 2022).

Karakterisasi Parsial

Karakterisasi Makroskopis

Identifikasi fenotip dilakukan melalui pengamatan makroskopis, yaitu morfologi koloni. Mikroskopis seperti bentuk sel, ukuran sel, warna, tepian, dan elevasi (Azizah & Azhar 2022).

Karakterisasi Fisiologi

Karakterisasi fisiologi dengan pewarnaan Gram. BAL merupakan bakteri Gram positif yang memberikan wana ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan bewarna merah (Rini & Rochmah 2020).

Karakterisasi Biokimia

Beberapa pengujian biokimia yang dilakukan yaitu uji katalase, uji motilitas, dan uji fermentasi karbohidrat (Hairunnisa 2019). Koloni dengan karakteristik Gram-positif, katalase-negatif, dan non-motil dianggap sebagai BAL.

Karakterisasi Probiotik

Uji Ketahanan BAL terhadap Suhu

Uji ketahanan isolat BAL terhadap suhu inkubasi dilakukan dengan cara 1 ose isolat BAL yang telah diremajakan dimasukkan dalam media MRSB. Isolat diinkubasi pada suhu 10°C, 37°C, dan 45°C selama 48 jam. Parameternya adalah tingkat kekeruhan (Giyatno & Retnaningrum 2020).

Uji Toleransi terhadap pH

pH yang diuji adalah pH 2, 3, 4, 5, 6, 8, dan 9. 1 ose isolat bakteri asam laktat kemudian di masukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml MRSB dan selanjutnya di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Susilowati et al., 2022). Parameter pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRSB.

Uji Toleransi terhadap Garam

Uji ketahanan isolat BAL terhadap garam dengan konsentrasi NaCl 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6% (diatur menggunakan NaCl 1M), dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Parameter pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRSB (Haryani et al., 2023).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi sumur agar. Media NA digunakan untuk menumbuhkan bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 35128 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Masing-masing 1 ose bakteri uji yang berumur 24 jam diinokulasikan ke dalam media NB dan isolat BAL ke dalam media MRSB, lalu shaker inkubator selama 24 jam. Sumur berdiameter 6 mm dibuat pada media

MHA yang diinokulasi dengan bakteri patogen uji dengan cara diusapkan menggunakan *swab stick* steril. Sumur diisi dengan masing-masing isolat BAL yang sudah ditumbuhkan pada MRSB. Setiap percobaan uji dilakukan dengan tiga ulangan, dan semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat (mm) yang mengelilingi sumur diukur dengan menggunakan jangka sorong. (Haryani et al., 2023).

Uji Biopreservatif

Uji produksi bakteriosin dilakukan dengan mengkulturkan kembali isolat BAL terpilih dalam 50 ml media MRSB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Untuk mendapatkan supernatan, selanjutnya disentrifugasi lagi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Larutan supernatan bebas sel diperoleh digunakan untuk tes selanjutnya (Rahayu et al., 2010).

Uji biopreservatif dilakukan dengan uji konfirmasi antibakteri bakteriosin. Supernatan BAL dipanaskan pada suhu 100°C pada beberapa variasi waktu 15, 30, dan 60 menit. Setelah dipanaskan, supernatan BAL diujikan lagi kemampuannya dalam menghambat bakteri indikator *Escherichia coli* ATCC 35128 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dengan tahap yang sama seperti prosedur kerja uji aktivitas antibakteri. Hal ini dilakukan untuk melihat apakah masih ada aktivitas antibakteri BAL setelah dipanaskan sehingga yang didapatkan itu benar bakteriosin dari BAL tersebut (Osmanagaoglu et al., (1998) dalam Wulandari et al., (2016).

HASIL PENELITIAN

Hasil isolasi dari sampel pakasam ikan kapiék diperoleh 5 isolat BAL, yaitu isolat P1, P2, P3, P4 dan P5. Karakterisasi makroskopis dan biokimia dari kelima isolat BAL tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Makroskopis dan Biokimia dari Isolat BAL

Kode Isolat	Karakter Makroskopis					Karakter Biokimia		
	Bentuk Koloni	Ukuran Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Gram	Katalase	Motilitas
P1	Round	Punctiform	Cream	Smooth	Convex	+	Negatif	Negatif
P2	Round	Punctiform	White	Smooth	Convex	+	Negatif	Negatif
P3	Round	Small	Cream	Smooth	Convex	+	Negatif	Negatif
P4	Irregular	Large	White	Irregular	Convex	+	Negatif	Negatif
P5	Irregular	Large	Cream	Irregular	Convex	+	Negatif	Negatif

Klasifikasi awal isolat BAL dapat dilihat dari kemampuannya menghasilkan glukosa. Isolat BAL yang berhasil diisolasi berdasarkan uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi Awal Isolat BAL Berdasarkan Uji Fermentasi Karbohidrat

Morfologi sel	Isolat	CO ₂ dari glukosa	Klasifikasi awal
Coccus	P1	√	Heterofermentatif, <i>Enterococcus</i> spp.
	P2	√	
Basil	P3	√	Heterofermentatif, <i>Lactobacillus</i> spp.
	P4	√	
	P5	√	

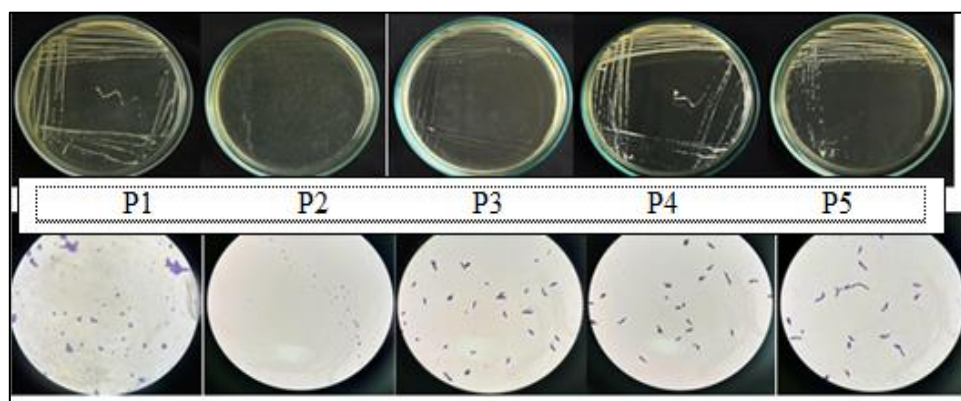
Karakterisasi biokimia isolat BAL sebagai kandidat agen probiotik diujikan ketahannya terhadap berbagai macam suhu, kadar garam dan pH. Hasil karakterisasi isolat BAL dari pakasam sebagai kandidat agen probiotik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakterisasi isolat BAL sebagai kandidat Agen Probiotik

Kode Isolat	Pertumbuhan															
	Temperatur (°C)			NaCl (%)						Ph						
	10	37	45	1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	8	9
P1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	-	-	√	-	-	√
P2	√	√	√	-	-	-	√	√	√	-	-	√	√	√	√	√
P3	√	√	-	√	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	√
P4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	√
P5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	√

Keterangan : “√” = tumbuh; “-” = tidak tumbuh

Morfologi koloni merupakan cara identifikasi bakteri secara makroskopis. Pewarnaan Gram merupakan metode untuk membedakan bakteri berdasarkan komposisi dinding selnya. Hasil morfologi koloni dan hasil pewarnaan Gram isolat pakasam terdapat pada Gambar 2.

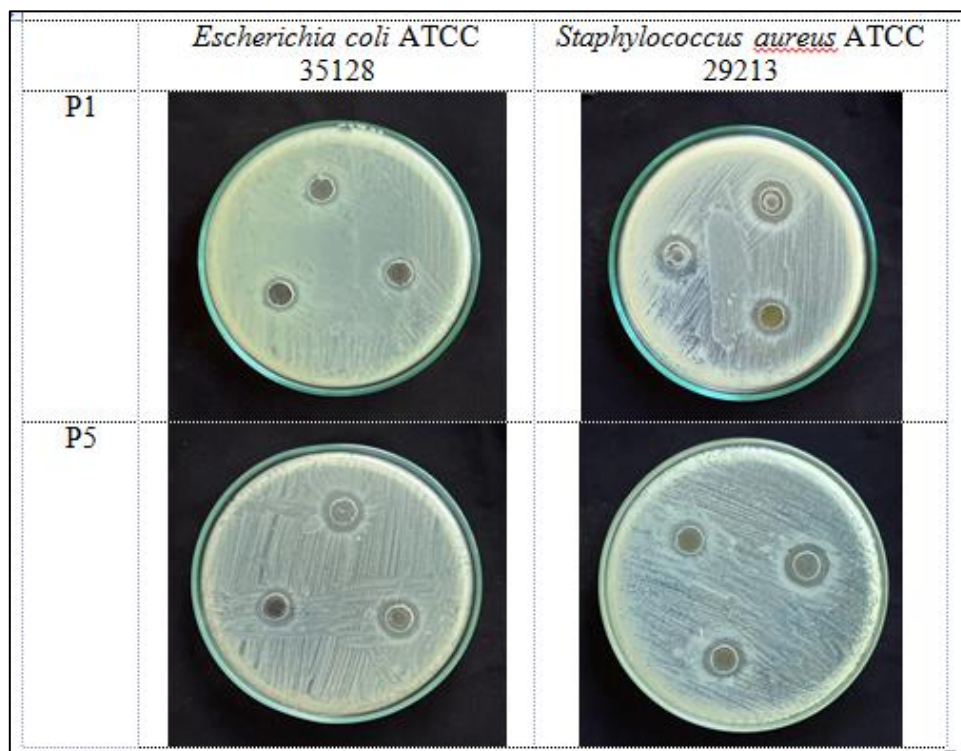
**Gambar 2. Morfologi koloni dan hasil pewarnaan Gram isolat pakasam**

Uji aktivitas antibakteri terhadap patogen uji mewakili kelompok Gram-positif dan Gram-negatif, yaitu *Escherichia coli* ATCC 35128 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Diameter zona bening uji aktivitas antibakteri kelima isolat BAL terhadap patogen uji tersebut terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Diameter Zona Bening Uji Aktivitas Antibakteri

Kode Isolat	Rata-rata Diameter Zona Hambat $\pm$ SD	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35128	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213
P1	$6,6 \pm 0,2$	$10,3 \pm 0,1$
P2	0 ± 0	0 ± 0
P3	$6,9 \pm 0,1$	0 ± 0
P4	$5,7 \pm 0,6$	0 ± 0
P5	$9,5 \pm 0,7$	$9,8 \pm 0,2$

Aktivitas antibakteri isolat P1 dan P5 adalah berspektrum luas karena memiliki daya hambat terhadap *Escherichia Coli* ATCC 35128 dan *Staphylococcus Aureus* ATCC 29213. Bentuk zona beningnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas Antibakteri Isolat P1 dan P5 Terhadap *Escherichia Coli* ATCC 35128 dan *Staphylococcus Aureus* ATCC 29213

Isolat yang berpotensi sebagai probiotik dan memiliki aktivitas antibakteri dilanjutkan kepada uji biopreservatif, yaitu isolat P5. Hasil karakterisasi biopreservatif dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Aktivitas supernatant isolat P5 sebagai agen Biopreservatif dengan Waktu Pemanasan di suhu 100°C

Bakteri Uji	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)		
	15 Menit	30 Menit	60 Menit
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35128	8,5 ± 0,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	6,6 ± 0,1	5,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0

PEMBAHASAN

Isolasi BAL dari Pakasam Ikan Kapiek

Hasil isolasi dari sampel pakasam ikan kapiek terdapat 5 isolat BAL yaitu isolate P1, P2, P3, P4, dan P5. Kelima isolat menunjukkan karakter makroskopis yang berbeda, sedangkan karakter biokimia Gram adalah positif, katalase dan motilitas semua isolat adalah negatif (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan penelitian Sari et al., (2018) mengenai BAL adalah katalase negatif dan non-motil.

Terdapat 2 klasifikasi BAL dari pakasam berdasarkan uji fermentasi karbohidrat. Kedua kelompok ini berbeda secara morfologi namun sama dalam kemampuannya menghasilkan CO₂ dari fermentasi glukosa. Oleh karena itu, untuk bakteri dengan morfologi basil diklasifikasikan sebagai Heterofermentatif-*Lactobacillus* spp. dan bakteri dengan morfologi coccus yaitu Heterofermentatif-*Enterococcus* spp. (Tabel 2). Hal ini sejalan dengan penelitian Sari et al., (2018) yang mengisolasi pakasam asal Palembang, Sumatera Selatan yaitu semua isolat BAL adalah heterofermentatif. Penelitian yang dilakukan oleh Desniar et al., (2012), yang mengisolasi pakasam asal Kabupaten Indramayu, Jawa Barat melaporkan 3 isolat merupakan *Pediococcus pentosaceus* dan 1 isolat adalah *Lactobacillus plantarum*. Keempat isolat tersebut adalah homofermentatif.

Bakteri Asam Laktat umumnya bersifat mesofilik, dan tumbuh dengan cepat antara suhu 20°C dan 40°C. Tabel 3. menunjukkan bahwa semua isolat BAL dari pakasam mampu tumbuh pada suhu 37 dan 45°C, tetapi ada 1 isolat dengan morfologi basil yang tidak mampu tumbuh di suhu 10°C. Toleransi isolat BAL dari pakasam terhadap pH, dimana pada pH 2 tidak ada isolat yang tumbuh, pada pH 3 diperoleh 3 isolat yang tumbuh (isolat P3, isolat P4 dan isolat P5). Semua isolat BAL mampu tumbuh pada pH 5 dan 9. Hasil penelitian Desniar et al., (2012) yang mengisolasi pakasam asal Jawa Barat dengan bahan ikan air tawar, garam dan nasi dengan waktu fermentasi pakasam 4 hari, isolat BAL yang berhasil terisolasi (empat isolat BAL) dilaporkan tidak dapat tumbuh pada pH 2. Menurut Usman & Hosono (1999), BAL dikatakan toleran asam jika dapat tumbuh pada pH 3. Toleransi isolat BAL terhadap pH asam bertujuan untuk mendukung manfaat makanan fermentasi sebagai penyedia probiotik. Menurut Aleta & Džuho (2020) makanan fermentasi berfungsi untuk

meningkatkan kesehatan saluran usus dan meningkatkan kekebalan tubuh. Hasil karakterisasi isolat BAL dari pakasam pada kondisi osmotik pada pengujian konsentrasi NaCl 1%, 2%, dan 3% terdapat satu isolat yaitu P2 yang tidak dapat tumbuh. Sedangkan untuk konsentrasi NaCl 4%, 5%, dan 6% semua isolat mampu tumbuh. Penelitian Desniar et al. (2012) isolat BAL dari pakasam ikan air tawar ada yang dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 2% sampai 6%. Masing-masing isolat BAL dari pakasam Riau mempunyai karakteristik pertumbuhan yang berbeda. hampir semua isolat mampu tumbuh dengan baik pada berbagai tingkat suhu (P1, P2, P4 dan P5) dan pada pH 3 (P3, P4 dan P5), dan toleransi terhadap konsentrasi garam ekstrim (P1, P3, P4 dan P5). Karakterisasi isolat BAL ini mewakili karakter dari genus *Enterococcus* spp.

Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri isolat P3 dan P4 hanya memiliki aktivitas pada *E.coli* ATCC 35128 yaitu $6,9 \pm 0,1$ mm dan $5,7 \pm 0,6$ mm. Sedangkan isolat P2 tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji. Hasil aktivitas P1 dan P5 yang berspektrum luas (Tabel 4). Hasil uji aktivitas isolat P1 dan P5 dapat dilihat pada Gambar 3. Isolat BAL pada penelitian ini lebih potensial dalam menghambat bakteri patogen dibandingkan dengan penelitian Astuti et al. (2021) dengan isolat BAL asal pakasam ikan patin yang difermentasi selama 8 hari yang hanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan aktivitas zona hambat berkisar pada 1,3-2,1 mm, pada *S.typhi* berkisar 0,9-1,6 mm dan *S.aureus* berkisar dari 1,7-2,3 mm.

Karakterisasi Biopreservatif

Aktivitas antibakteri dari supernatan bebas sel isolat P5 yang dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit terhadap *Escherichia coli* ATCC 35128 yaitu $8,5 \pm 0,8$ mm dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yaitu $6,6 \pm 0,1$ mm. Supernatan bebas sel isolat P5 yang dipanaskan selama 30 menit tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 35128, namun masih memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 yaitu $5,0 \pm 0,1$ mm (Tabel 5). Penelitian Wulandari et al. (2016) menggunakan supernatan isolat BAL yang diisolasi dari buah-buahan lokal di Riau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* FNCC 0047 setelah diberi perlakuan panas 100°C. Supernatan bebas sel isolat P5 terkonfirmasi senyawa antibakterinya adalah bakteriosin. Hal ini karena bakteriosin merupakan peptida pendek yang stabil terhadap panas. Menurut Rahayu et al. (1998) adanya asam amino tertentu pada bakteriosin dapat mempertahankan struktur bakteriosin dari pengaruh panas. Hasil penelitian Sari et al. (2018) menunjukkan bahwa ekstrak kasar bakteriosin isolat BAL asal pakasam dari Sumatera Selatan mampu menghambat

S.aureus ATCC 25923 dengan zona hambat 13,1 mm, *E.coli* ATCC 25922 sebesar 12,7 mm dan *Salmonella* sp. dengan zona hambat masing-masing 7,3 mm.

SIMPULAN

Isolasi dari pakasam ikan kapiek memperoleh 5 isolat BAL yaitu isolat P1, P2, P3, P4 dan P5. Berdasarkan karakterisasi awal isolat P1 dan P2 adalah genus *Enterococcus* spp. dan isolat P3, P4, dan P5 adalah genus *Lactobacillus* spp. Isolat P5 adalah kandidat bakteri probiotik karena dapat tumbuh dengan baik pada berbagai suhu, pada pH 3, kadar garam ekstrim, dan memiliki aktivitas antibakteri yang berspektrum luas. Isolat P5 merupakan kandidat agen biopreservatif karena mempunyai aktivitas antibakteri setelah supernatan bebas selnya dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C terhadap *Escherichia coli* ATCC 35128 sebesar $8,5 \pm 0,8$ mm dan 30 menit pada suhu 100°C terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sebesar $5,0 \pm 0,1$ mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat; Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi; Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia atas pendanaan dengan skim Penelitian Tesis Magister (PTM) dengan No kontrak: 20770/UN19.5.1.3/AL.04 /2024 dan Universitas Riau untuk fasilitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- A'yuni, N. M., Hidaayah, N., & Pratiwi, V. N. (2020). Analisis perbedaan waktu fermentasi terhadap kadar probiotik dan aktivitas antioksidan pada minuman probiotik sari buah stroberi (*Fragaria anannassa*). *Sport and Nutrition Journal*, 2(2), 49–55. <https://doi.org/10.15294/spnj.v2i2.39914>
- Aini, A., Ustiawaty, J., Kurniawan, E., & Maulana, A. (2022). Isolate and characterization of lactic acid bacteria (LAB) in local nira as probiotic starter candidates. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(4), 1195–1203. <https://doi.org/10.29303/jbt.v22i4.4429>
- Alang, H., Kusnadi, J., Ardyati, T., & Suharjono. (2020). Potensi *Staphylococcus hominis* K1A dari susu kerbau belang Toraja Sulawesi Selatan sebagai kandidat probiotik. *Journalisten en Heethoofden*, 672–695. https://doi.org/10.1163/9789004487123_025
- Aleta, A., & Džuho, A. (2020). Probiotics review and future aspects. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 5(5), 270–274. <http://www.ijisrt.com270>
- Anggraini, L., Marlida, Y., Mirzah, Wizna, Jamsari, & Huda, N. (2019). Isolation and characterization of lactic acid bacteria producing GABA from indigenous West Sumatera fermented food. *International Journal on Advanced Science*,

- Engineering and Information Technology*, 9(3), 855–860. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.9.3.8265>
- Astuti, T. R., Yufidasari, H. S., Nursyam, H., & Della, J. G. B. (2021). Isolasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan patin dan potensi antimikrobanya terhadap beberapa bakteri patogen. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(3). <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2021.005.03.10>
- Azara, R., & Saidi, I. A. (2021). *Buku ajar mikrobiologi pangan* (pp. 1–128). Umsida Press. <https://doi.org/10.21070/2020/978-623-6833-64-3>
- Azizah, A., & Azhar, M. (2022). Identifikasi gen 16S rRNA bakteri asam laktat UBC-DTK-01 dari dadih. *Jurnal Periodic Jurusan Kimia UNP*, 11(2), 31. <https://doi.org/10.24036/p.v11i2.113724>
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
- Cahyati, G., & Putra, P. (2022). *Isolasi bakteri asam laktat halofilik dari wadi dan uji aktivitas antibakteri supernatan bebas selnya terhadap bakteri pembentuk histamin* [Skripsi, Universitas Gadjah Mada].
- Chalid, S. Y., Nurbayti, S., & Pratama, A. F. (2018). Karakterisasi dan uji aktivitas protein susu kerbau (*Bubalus bubalis*) fermentasi sebagai angiotension converting enzyme (ACE) inhibitor. *Jl. Ir. H. Djuanda No. 95 Ciputat*, 16(2), 214–224. <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/download/526/376/>
- Desniar, D., Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2012). Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat asal bekasam. *Jurnal Akuatika*, 3(2), 135–145. <https://doi.org/10.24198/akuatika.v3i2.1611>
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2020). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Sains*, 9, 42–49. <http://dx.doi.org/10.21831/jsd.v9i2.34523>
- Hafsan, H. (2014). Bakteriosin asal bakteri asam laktat sebagai biopreservatif pangan. *Teknosains*, 8(2), 175–184. <https://doi.org/10.24252/teknosains.v8i2.1905>
- Hairunnisa, R. S. (2019). Identifikasi bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dari makanan botok ikan tongkol (*Euthynnus affinis* C) khas Kalimantan Barat yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen. *Jurnal Farmasi Kalbar*, 1–8.
- Haryani, Y., Halid, N. A., Guat, G. S., Nor-Khaizura, M. A. R., Hatta, A., Sabri, S., Radu, S., & Hasan, H. (2023). Characterization, molecular identification, and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from selected fermented foods and beverages in Malaysia. *FEMS Microbiology Letters*, 370(March), 1–12. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnad023>
- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., & Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, 10(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
- Kustyawati, M. E. (2020). *Mikrobiologi hasil pertanian*.
- Marlina, E., Nasution, H., & Isranbidin, I. (2018). Pemberdayaan ekonomi kelompok nelayan tangkap dalam upaya optimalisasi tangkapan ikan produk pekasam

- kemasan di Desa Pangkalan Serai. *Jurnal Pengabdian UntukMu NegeRI*, 2(2), 55–59. <https://doi.org/10.37859/jpumri.v2i2.836>
- Maryana, D. (2014). Pengaruh penambahan sukrosa terhadap jumlah bakteri dan keasaman whey fermentasi dengan menggunakan kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*. [Tesis, Universitas Hasanuddin].
- Novelia, K., Purwijantiningsih, E., & Pranata, S. (2020). Kualitas dan aktivitas antimikroba cincalok terhadap bakteri patogen selama waktu fermentasi. *Jurnal Gizi, Pangan dan Sumberdaya Manusia*, 4(November), 203–215. <http://jos.unsoed.ac.id/index.php/jgps>
- Obadina, A. O., Akinola, O. J., Shittu, T. A., & Bakare, H. A. (2013). Effect of natural fermentation on the chemical and nutritional composition of fermented soymilk nono. *Nigerian Food Journal*, 31(2), 91–97. [https://doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30081-3](https://doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30081-3)
- Rahayu, E. S., Wardani, A. K., & Margino, S. (2004). Skrining bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dari daging dan produk olahannya. *Agritech*, 24(02), 74–81. <https://jurnal.ugm.ac.id/agritech/article/download/13490/9669>
- Rini, C. S., & Rochmah, J. (2020). *Bakteriologi dasar* (Vol. 1, Issue 1). Umsida Press.
- Rizal, S., Erna, M., & Nurainy, F. (2016). Probiotic characteristic of lactic fermentation beverage of pineapple juice with variation of lactic acid bacteria (LAB) types. *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 18(1), 63–71. <http://kimia.lipi.go.id/inajac/index.php>
- Salsabilla, K. N., & Trimulyono, G. (2022). Isolasi dan uji antagonis bakteri asam laktat dari tape pisang kepok terhadap *Escherichia coli*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11, 430–440. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/16335>
- Sari, M., Suryanto, D., & Yurnaliza. (2018). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from bekasam against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella* sp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/130/1/012011>
- Sofiana, M. S. J., Warsidah, Idiawati, N., Nurdiansyah, S. I., Aritonang, A. B., Rahmawati, Adhyanti, & Fadly, D. (2020). The activity of lactic acid bacteria from Ale-ale (fermented clams) and cincalok (fermented shrimp) as antioxidant and antimicrobial. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(12), 1676–1679. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.12.251>
- Suardana, I. W., Septiara, H. K. A., & Suarsana, I. N. (2017). Karakteristik fisikokimia bakteriosin asal bakteri asam laktat *Enterococcus durans* hasil isolasi kolon sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 9(1), 209–215. <https://doi.org/10.21531/bulvet.2017.9.2.209>
- Suri, R. D., Rinto, R., & Huriyah, S. B. (2018). Peningkatan sifat fungsional bekasam menggunakan starter *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 179–187. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21596>
- Susilowati, A. Y., Jannah, S. N., Kusumaningrum, H. P., & Sulistiani, S. S. (2022). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari susu kambing sebagai bakteri

- antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* penyebab foodborne disease. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2), 24–31. <https://doi.org/10.14710/jtp.2022.29488>
- Suyono, M. N., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2024). Pemanfaatan bakteri asam laktat (BAL) amilolitik untuk fermentasi tepung terigu dan gandum. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 10(2), 61–66. <https://doi.org/10.29244/jsdh.10.2.61-66>
- Tamang, J. P., Cotter, P. D., Endo, A., Han, N. S., Kort, R., Liu, S. Q., Mayo, B., Westerik, N., & Hutkins, R. (2020). Fermented foods in a global age: East meets West. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(1), 184–217. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12520>
- Usman, & Hosono, A. (1999). Bile tolerance, taurocholate deconjugation, and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strains. *Journal of Dairy Science*, 82(2), 243–248. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75229-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75229-X)
- Waty, K., Purwijantiningsih, E., & Sinung, P. (2019). Kualitas fermentasi spontan wadi ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan variasi konsentrasi garam. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 4(1), 24–32. <https://doi.org/10.24002/biota.v4i1.2364>
- Wulandari, N. A., Fibriarti, B. L., & Roza, R. M. (2016). Seleksi potensi bakteri probiotik indigenus Riau sebagai agen biopreservatif bahan pangan. *Jurnal Riau Biologia*, 1(7), 44–49.
- Yuniastuti, A. (2014). *Probiotik (Dalam perspektif kesehatan)*. UNNES Press.
- Yuniastuti, A. (2015). *Buku monograf probiotik*. UNNES Press.