

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Bakteriosin Termofilik yang Dihasilkan oleh *Pediococcus pentosaceus* terhadap *Salmonella enteritidis* dan *Enterococcus casseliflavus*

Fathin Hamida¹

¹Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jalan Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

*Email korespondensi: fathinfarmasi@istn.ac.id

ABSTRAK

Pediococcus pentosaceus merupakan anggota dari kelompok bakteri asam laktat, Gram positif, dan tumbuh secara anaerob fakultatif. Bakteri ini mampu menghasilkan substansi antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Penelitian bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba ekstrak kasar bakteriosin tahan panas yang dihasilkan oleh *P. pentosaceus*. Ekstrak kasar bakteriosin diperoleh dari supernatan kultur *P. pentosaceus* berumur 14 jam, dipanaskan pada suhu 100 °C selama 20 menit. Ekstrak kasar bakteriosin tahan panas diuji kemampuannya menghambat pertumbuhan *Salmonella enteritidis* dan *Enterococcus casseliflavus* menggunakan metode Difusi Agar Sumuran. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kasar bakteriosin mampu menghambat *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus* secara berturut dengan nilai Diameter Daerah Hambat (DDH) sebesar 16,5 mm dan 20,8 mm. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar bakteriosin tahan panas dari *P. pentosaceus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji, yaitu *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus*.

Kata Kunci: antibakteri, bakteri asam laktat, bakteriosin, *Pediococcus pentosaceus*, termofilik

Antibacterial Activity of Thermophilic Bacteriocin Crude Extract Produced by *Pediococcus pentosaceus* against *Salmonella enteritidis* and *Enterococcus casseliflavus*

ABSTRACT

Pediococcus pentosaceus is a member of a group of lactic acid bacteria, Gram positive, and facultative anaerobic. This species was able to produce antimicrobial substances such as lactic acid, hydrogen peroxide, and bacteriocins. This study aimed to test the antimicrobial activity of the thermophilic bacteriocin crude extract produced by *P. pentosaceus*. Bacteriocin crude extract was obtained from 14 hours of *P. pentosaceus* culture supernatant, was heated at 100 °C for 20 minutes. Thermophilic bacteriocin crude extract was tested for its ability to inhibit the growth of *Salmonella enteritidis* and *Enterococcus casseliflavus* using the agar well diffusion method. The results showed that the bacteriocin crude extract can inhibit the growth of *S. enteritidis* and *E. casseliflavus* about 16.5 and 20.8 mm, respectively. It was concluded that the thermophilic bacteriocin crude extract from *P. pentosaceus* was able to inhibit the growth of *S. enteritidis* and *E. casseliflavus*.

Keywords: antibacteria, bacteriocin, lactic acid bacteria, *Pediococcus pentosaceus*, thermophilic

PENDAHULUAN

Pediococcus pentosaceus merupakan bakteri asam laktat (BAL), Gram positif, tidak berspora, katalase negatif, berbentuk kokus, tidak mempunyai sitokrom, dan pertumbuhannya bersifat anaerob fakultatif. *P. pentosaceus* dapat diisolasi dari saluran pencernaan. BAL dapat diisolasi dari fermentasi daging (Rojo-Bezares *et al.*, 2006; Anastasiadou *et al.*, 2008), fermentasi buah (Todorov & Dicks, 2009), fermentasi susu (Bao *et al.*, 2010), fermentasi sayuran (Jiang *et al.*, 2012), dan organ pencernaan (Jannah *et al.*, 2014). BAL mampu

menghasilkan substansi antimikroba selama masa pertumbuhan seperti asam organik dan hidrogen peroksida sebagai metabolit primer, serta bakteriosin sebagai metabolit sekunder (Surono, 2004).

Bakteriosin merupakan substansi antimikroba peptida kationik yang disintesis pada ribosom (Cameron, *et al.*, 2019). Bakteriosin berbeda dengan antibiotik berdasarkan: 1) bakteriosin disintesis pada ribosom, 2) bakteri penghasil bakteriosin memiliki protein imun sehingga tidak sensitif terhadap bakteriosin, 3) cara kerja yang berbeda, dan 4) memiliki aksi bakterisidal berspektrum sempit (Lee & Salminen, 2009). Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri Gram positif menghambat

galur yang sama atau spesies yang berkerabat dekat secara filogenetik. Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok: (I) lantibiotik, (II) peptida kecil tahan panas, dan (III) protein berat molekul besar tidak tahan panas (Alvarez-Sieiro *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa *P. pentosaceus* mampu menghasilkan substansi antimikroba berupa asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang efektif terhadap *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus* dan memiliki aktivitas hambat tertinggi dibandingkan isolat BAL lainnya (Hamida *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak kasar bakteriosin yang dihasilkan oleh *P. pentosaceus* setelah ekstrak kasar bakteriosin dipanaskan pada suhu 100 °C selama 20 menit. Pemanasan bertujuan untuk menguji aktivitas bakteriosin termofilik yang dihasilkan oleh *P. Pentosaceus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. *De Man, Rogosa and Sharpe* / MRS (Merck), Nutrient Agar (Merck), Filter millipore 0,22 µm (Millex'GP).

Mikroorganisme dan Kondisi Pertumbuhan. *P. pentosaceus* ditumbuhkan dan diperbanyak menggunakan media cair MRS dalam inkubator *anaerobic jar* dengan penambahan GasPak (Merck, Germany) pada suhu 37 °C. Bakteri patogen yang diuji yaitu *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus*. *S. enteritidis* ditumbuhkan dan diperbanyak menggunakan media Nutrient Broth dalam inkubator bergoyang pada suhu 37 °C. *E. casseliflavus* ditumbuhkan dan diperbanyak menggunakan media cair MRS dalam inkubator *anaerobic jar* dengan GasPak (Merck, Germany) pada suhu 37 °C.

Ekstraksi Bakteriosin Kasar dari *P. Pentosaceus*. Kultur *P. pentosaceus* berumur 14 jam disentrifugasi pada kecepatan agitasi 7.000 rpm selama 10 menit, lalu dipisahkan supernatan dan peletnya. Supernatan bebas sel dinetralkan (pH 6,5). pH diatur menggunakan NaOH 1N dan HCl 1N, lalu supernatan dipanaskan selama 20 menit pada suhu 100 °C. Selanjutnya, supernatan disterilisasi menggunakan membran filter millipore (ukuran pori 0,22 µm).

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakteriosin Kasar dari *P. pentosaceus* terhadap Bakteri Patogen. Aktivitas antimikroba diuji menggunakan metode Difusi Agar Sumuran. Kultur bakteri patogen (berumur 14 jam) sebanyak 1 mL (jumlah sel sebesar 10⁷ -10⁸ CFU mL⁻¹) dicampurkan ke dalam 18 mL media cawan Nutrient Agar. Sumur dibuat menggunakan ujung pipet steril berdiameter 7 mm dan masing-masing sumur diisi dengan 50 µL ekstrak bakteriosin kasar. Seluruh perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Zona hambat diamati dan diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong sebagai nilai Diameter Daerah Hambat

(DDH). Uji aktivitas antimikroba dilakukan sebanyak 3 ulangan, dan masing-masing ulangan dibuat duplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar bakteriosin dari *P. pentosaceus* tampak memiliki efek menghambat pertumbuhan *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus* (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa bakteriosin dari *P. pentosaceus* memiliki aktivitas penghambatan spektrum luas, yaitu mampu menghambat bakteri golongan Gram positif dan Gram negatif. *P. pentosaceus* dilaporkan memiliki aktivitas spektrum luas dan mampu menghambat pertumbuhan berbagai genera bakteri seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Listeria* and *Clostridium* (Elyass *et al.*, 2015; Gutiérrez-Cortés *et al.*, 2018).

Adanya aktivitas penghambatan menunjukkan bahwa *P. pentosaceus* mampu menghasilkan senyawa antimikroba. *P. pentosaceus* termasuk ke dalam kelompok bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa antimikroba berupa asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Hamida *et al.*, 2015). Asam laktat sebagai antimikroba dapat menghancurkan membran luar bakteri Gram negatif dengan cara mengganggu aktivitas pompa proton transmembran (Alakomi *et al.*, 2000). Asam yang berdifusi pada membran sel menyebabkan pelepasan ion H⁺ dan pengasaman (asidifikasi) pada sitoplasma. Kondisi ini berlanjut pada kerusakan elektrokimia gradien proton, kebocoran dinding sel, kehancuran protein sel, hingga kematian sel (Wang *et al.*, 2015). Bakteriosin bekerja pada membran sitoplasma sel bakteri Gram positif dengan cara menghilangkan potensial listrik transmembran hingga terbentuk pori-pori (Bauer *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2016). Penetrasi terhadap supernatan bebas sel bertujuan untuk menghilangkan efek antimikroba dari asam organik. Pemanasan terhadap supernatan bebas sel bertujuan untuk menghilangkan efek antimikroba dari hidrogen peroksida. Dengan demikian, efek penghambatan yang terjadi adalah berasal dari efek antimikroba dari bakteriosin.

Tabel 1. Diameter Daerah Hambat (DDH) ekstrak kasar bakteriosin termofilik yang diproduksi oleh *P. pentosaceus* terhadap bakteri *S. enteritidis* dan *E. casseliflavus* pada media NA dengan suhu 37 °C

Bakteri Patogen Uji	Rata – rata Diameter Daerah Hambat (mm)
<i>S. enteritidis</i>	16,5
<i>E. casseliflavus</i>	20,8

Aktivitas antibakteri tampak lebih besar menghambat pertumbuhan *E. casseliflavus* dibandingkan *S. Enteritidis* (Tabel 1). Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri Gram positif menghambat galur yang sama atau spesies yang berkerabat dekat secara filogenetik. Bakteriosin memiliki muatan positif yang mungkin dapat memudahkan interaksi antara muatan negatif fosfolipid membran bakteri. Interaksi antara 4 kationik ampifilik

peptida bakteriosin dengan lipid pada membran sel menyebabkan permeabelisasi (Lee & Salminen, 2009). Bakteriosin mengikat membran dinding sel pada reseptor tertentu mengakibatkan pembentukan pori pada dinding sel dan menghambat sintesis dinding sel. Pembentukan pori membran mengakibatkan komponen kecil sitoplasma (seperti asam amino, ion K^+ , fosfat nonorganik, dan ATP) mengalir cepat ke luar sel (Todorov & Dicks, 2009). Pediocin AcH yang diproduksi oleh *P. acidilactici* berikatan dengan reseptor nonspesifik, kemungkinan asam lipoteikoat. Ketika berada pada konsentrasi tinggi, molekul akan berikatan dengan reseptor spesifik dan mengubah integritas membran (Bhunia *et al.*, 1991). Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa mekanisme aksi bakteriosin yang dihasilkan oleh *P. pentosaceus* LB44 menunjukkan bahwa bakteriosin mengikat lipid membran pada sel target (Kaur & Tiwari, 2018). Efek antimikroba dari ekstrak kasar bakteriosin pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak kasar bakteriosin mampu bertahan pada pemanasan suhu 100 °C selama 20 menit. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa bakteriosin yang diproduksi oleh *P. pentosaceus* LB44 stabil pada pemanasan suhu 80, 100, dan 121 °C selama 15 menit (Kaur & Tiwari, 2018). Salah satu manfaat bakteriosin tahan panas yaitu dapat dijadikan sebagai agen biopreservatif pada makanan (Sarika *et al.*, 2019). Namun, perlu dilakukan purifikasi terhadap ekstrak kasar bakteriosin dan dilakukan karakterisasi agar dapat ditentukan arah penerapannya.

KESIMPULAN

Ekstrak bakteriosin kasar yang dihasilkan oleh *P. pentosaceus* tahan pada suhu 100 °C selama 20 menit dan mampu menghambat pertumbuhan *E. casseliflavus* dan *S. enteritidis*. Penghambatan pertumbuhan *E. casseliflavus* lebih besar dibandingkan *S. enteritidis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H.L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I.M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied Environmental Microbiology*, 66, 2001-2005.
- Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., Kuipers, O.P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: Extending the family. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100, 2939-2951.
- Anastasiadou, S., Papagianni, M., Filioysis, G., Ambrosiadis, I., & Koidis, P. (2008). Growth and metabolism of a meat isolated strain of *Pediococcus pentosaceus* in submerged fermentation. Purification, characterization and properties of the produced pediocin SM-1. *Enzyme Microb Technol*, 43, 448-454. doi:10.1016/j.enzmictec.2008.05.007.
- Bao, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, S., Dong, X., Wang, Y., & Zhang, H. (2010). Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Cont*, 21, 695-701. doi:10.1016/j.foodcont.2009.10.010.
- Bauer, R., Chikindas, M.L., & Dicks, L.M.T. (2005). Purification, partial amino acid sequence and mode of action of pediocin PD-1, a bacteriocin produced by *Pediococcus damnosus* NCFB 1832. *International Journal of Food Microbiology*, 101, 17 – 27.
- Bhunia, A.K., Johnson, M.C., Ray, B., & Kalchayanand, N. 1991. Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. *J Appl Bacteriol*. 70:25-33
- Cameron, A., Zaheer, R., Adator, E.H., Barbieri, R., Reuter, T., & McAllister, T.A. (2019). Bacteriocin Occurrence and Activity in *Escherichia coli* Isolated from Bovines and Wastewater. *Toxins*, 11, 475, doi:10.3390/toxins11080475.
- Elyass, M.E., Mahdi, A.A., Attitall, I.H., Altayar, M.A., Abdelrawaf, S.S., & Shigidi, M.T. (2015). Characterization and Evaluation of Antimicrobial Activity of Bacteriocins from *Lactobacillus curvatus* and *Pediococcus pentosaceus*. *Journal of Infectious & Non Infectious Diseases*. DOI: 10.24966/INID-8654/100001. <https://www.heraldopenaccess.us/openaccess/characterization-and-evaluation-of-antimicrobial-activity-of-bacteriocins-from-lactobacillus-curvatus-and-pediococcus-pentosaceus>
- Gutiérrez-Cortés, C., Suarez, H., Buitrago, G., Nero, L.A., & Todorov, S.D. (2018). Characterization of bacteriocins produced by strains of *Pediococcus pentosaceus* isolated from Minas cheese. *Annals of Microbiology*, 68, 383–398.
- Hamida, F., Wiryawan, K.G., Meryandini, A. (2015). Selection of Lactic Acid Bacteria as Probiotic Candidate for Chicken. *Media Peternakan*, 38, (2), 138-144. doi: 10.5398/medpet.2015.38.2.138
- Jannah, S.N., Dinoto, A., Wiryawan, K.G., & Rusmana, I. (2014). Characteristic of lactic acid bacteria isolated from gastrointestinal tract cemani chicken and their potential use as probiotics. *Media Peternakan*, 37, (3), 182-189.
- Jiang, J., Shi, B., Zhu, D., Cai, Q., Chen, Y., Li, J., Qi, K., & Zhang, M. (2012). Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus sakei* LSJ618 isolated from traditional Chinese fermented radish. *Food Cont*, 23, 338-344. doi:10.1016/j.foodcont.2011.07.027.
- Kaur, R., & Tiwari, S.K. (2018) Membrane-acting bacteriocin purified from a soil isolate *Pediococcus pentosaceus* LB44 shows broad host-range. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, xxx, 1-7.
- Lee, Y.K., Salminen, S. (2009). *Hand Book of Probiotics and Prebiotic*. 2nd Edition. United States of Amerika: John Wiley & Sons, Inc.
- Liu, G., Song, Z., Yang, X., Gao, Y., Wang, C., & Sun, B. (2016). Antibacterial mechanism of bifidocin A, a novel broad-spectrum bacteriocin produced by

- Bifidobacterium animalis* BB04. *Food Control*, 62, 309-316.
- Rojo-Bezares, B., Sáenz, Y., Poeta, P., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. (2006). Assessment of antibiotic susceptibility within lactic acid bacteria strains isolated from wine. *Int J Food Microbiol*, 111, 234-240. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.007.
- Sarika, A.R., Lipton, A.P., & Aishwarya, M.S. (2019). Biopreservative Efficacy of Bacteriocin GP1 of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 on Stored Fish Filets. *Front. Nutr*, 6, 29. doi: 10.3389/fnut.2019.00029
- Stiles, M.E., & Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol*, 36, 1-29.
- Surono IS. (2004). *Probiotik – Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarat, Indonesia: Tri Cipta Karya.
- Wang, C., Chang, T., Hong, Y.H., & Cui, M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47, 231-236.