

APLIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI INASUA SEBAGAI BIOPRESERVATIF IKAN PATIN (*Pangasius sp.*)

Meilany Ariati Dewi¹, Nisa Rachmania Mubarik^{2*}, Desniar³, Sri Budiarti²

¹Program Studi Mikrobiologi, Sekolah Pascasarjana, IPB University

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University

³Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University

Diterima: 30 Desember 2021/Disetujui: 12 April 2022

*Korespondensi: nrachmania@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi: Dewi MA, Mubarik NR, Desniar, Budiarti S. 2022. Aplikasi bakteri asam laktat dari inasua sebagai biopreservatif ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1): 152-162.

Abstrak

Bakteri asam laktat atau BAL merupakan bakteri yang dikategorikan sebagai *generally recognized as safe* (GRAS) karena bersifat aman bagi kesehatan manusia dan non patogen sehingga berpotensi sebagai biopreservatif. Beberapa produk metabolisme yang dihasilkan oleh BAL memiliki kemampuan sebagai antibakteri, di antaranya ialah bakteriosin, diasetil, hidrogen peroksida dan asam organik. Isolat *L. plantarum* IN05 dan *L. rhamnosus* IN13 yang diisolasi dari makanan fermentasi inasua dikaji potensinya sebagai biopreservatif karena kemampuannya sebagai antibakteri. Kandungan protein hewani dalam ikan sangat diminati oleh masyarakat, salah satunya adalah ikan patin yang banyak diminati masyarakat, namun ikan patin mudah mengalami kerusakan dan penurunan mutu. Hal ini disebabkan oleh hadirnya bakteri patogen *Listeria monocytogenes* yang memiliki kemampuan tumbuh pada suhu penyimpanan dingin (refrigerasi) hingga beku. Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan supernatan bebas sel netral, supernatan bebas sel, dan biomassa sel bakteri dari isolat *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* IN05 serta formalin dalam penyimpanan ikan patin filet yang terkontaminasi bakteri *L. monocytogenes*. Metode yang digunakan mencakup produksi senyawa antibakteri, penentuan sensitivitas senyawa antibakteri terhadap bakteri uji, uji konfirmasi senyawa antibakteri dengan penambahan proteinase K, aplikasi senyawa antibakteri pada ikan patin filet, perhitungan total koloni bakteri, koloni bakteri *L. monocytogenes*, dan bakteri asam laktat, serta pengukuran nilai pH ikan patin filet. Senyawa antibakteri SBSN dari *L. rhamnosus* IN13 memiliki kemampuan mempertahankan ikan patin filet sampai lama penyimpanan 14 hari sesuai dengan syarat ikan segar yang layak untuk dikonsumsi sesuai standar SNI tahun 2017 tentang persyaratan umum dan pedoman untuk pengujian mikrobiologi. Nilai total mikrob 5,65 log CFU/g, nilai pH daging ikan patin filet 6,37, dan nilai total bakteri *L. monocytogenes* yang menurun selama waktu penyimpanan.

Kata kunci: bakteri asam laktat (BAL), biopreservatif, *Lactobacillus plantarum* IN05, *Lactobacillus rhamnosus* IN13, *Pangasius sp.*

Lactic Acid Bacteria Application from Inasua as Biopreservative for Catfish (*Pangasius sp.*)

Abstract

Lactic Acid Bacteria or LAB are bacteria that are categorized as generally recognized as safe (GRAS) because they are safe for human health and are non-pathogenic, so they have the potential to be biopreservative. Several metabolic products produced by LAB have antibacterial properties, including bacteriocin, diacetyl, hydrogen peroxide and organic acids. Isolates of *L. plantarum* IN05 and *L. rhamnosus* IN13 isolated from fermented inasua food were studied for their potential as biopreservatives because of their antibacterial properties. The content of animal protein in fish is in great demand by the public, one of which is catfish which is in great demand by the public, but catfish is easy to damage and decrease in quality. This is due to the presence of the pathogenic bacterium *Listeria monocytogenes* which has the ability to grow at cold

storage temperatures (refrigeration) to freezing. This study aimed to apply a neutral cell-free supernatant, cell-free supernatant, and bacterial cell biomass from *L. rhamnosus* IN13 and *L. plantarum* IN05 isolates and formalin in storage of catfish fillets contaminated with *Listeria monocytogenes* bacteria. The methods used include the production of antibacterial compounds, determination of the sensitivity of antibacterial compounds to test bacteria, confirmation test of antibacterial compounds with the addition of proteinase K, application of antibacterial compounds to catfish fillets, calculation of total bacterial colonies, bacterial colonies of *L. monocytogenes*, and lactic acid bacteria, as well as measurement of the pH value of catfish fillet. The SBSN antibacterial compound from *L. rhamnosus* IN13 has the ability to maintain catfish fillets for up to 14 days of storage in accordance with the requirements for fresh fish that are suitable for consumption according to the 2017 SNI standard on general requirements and guidelines for microbiological testing. The total microbial value was 5.65 log CFU/g, the pH value of catfish fillet meat was 6.37, and the total value of *L. monocytogenes* bacteria decreased during storage time.

Keywords: biopreservatives, lactic acid bacteria (LAB), *Lactobacillus plantarum* IN05, *Lactobacillus rhamnosus* IN13, *Pangasius* sp.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat atau BAL merupakan bakteri yang dikategorikan sebagai *generally recognized as safe* (GRAS) karena bersifat aman bagi kesehatan manusia dan non patogen sehingga berpotensi sebagai biopreservatif (Breton *et al.* 2020). BAL menghasilkan beberapa produk metabolisme yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri, misalnya asam organik, hidrogen peroksida, dan diasetil. BAL dikenal memiliki kemampuan memproduksi zat spesifik protein berupa bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen misalnya genus *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus*, dan *Enterococcus* (Khader *et al.* 2019).

Isolat BAL yang mampu menghasilkan antibakteri dapat diisolasi dari makanan fermentasi, contohnya inasua. Inasua merupakan bentuk olahan fermentasi ikan khas Maluku Tengah, Indonesia. Mahulette *et al.* (2018) telah mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari fermentasi inasua, antara lain *Lactobacillus plantarum* IN05, *Lactobacillus rhamnosus* IN13 dan *Leuconostoc mesenteroides* ITN17. Maulidayanti *et al.* (2019) melaporkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan *L. rhamnosus* IN13 dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes*. *Bacillus cereus* dapat dihambat oleh asam organik yang dihasilkan BAL isolat SK (5) yang memiliki kemiripan secara molekuler dengan *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* NC 8 dengan diameter zona hambat sebesar 15 mm (Desniar *et al.* 2020).

Kebutuhan konsumsi ikan segar di masyarakat sudah sangat massif dan diminati karena kandungan protein hewani yang tinggi (Mei *et al.* 2019). Ikan patin (*Pangasius* sp.) merupakan salah satu dari banyak ikan segar yang dikonsumsi di Asia, Eropa, Amerika, dan Kanada. Rata-rata kenaikan produksi ikan patin di Indonesia sebesar 17,5% dari tahun 2015 hingga tahun 2019 (KKP 2019). Produk ikan patin filet tanpa kulit dan duri merupakan produk ikan yang paling banyak dijual di pusat perbelanjaan (Thi *et al.* 2013).

Ikan patin memiliki keunggulan dibandingkan dengan ikan yang lain, yaitu sisik dan duri yang relatif sedikit, daging berwarna putih kemerahan, serta mudah dikuliti, disamping itu ikan patin filet juga memiliki kekurangan, karena mudah mengalami kerusakan dan penurunan mutu (Sarika *et al.* 2019). Penurunan mutu produk ikan dapat terjadi karena hadirnya bakteri patogen misalnya *L. monocytogenes* (Lebow *et al.* 2017). *L. monocytogenes* merupakan bakteripatogen yang menyebabkan keracunan dan berpengaruh sangat kuat pada industri pangan, karena masih mampu tumbuh pada suhu penyimpanan dingin atau refrigerasi hingga suhu penyimpanan beku (Buchanan *et al.* 2017). Mengatasi masalah yang muncul pada ikan patin filet mendorong adanya penanganan lebih lanjut dalam penyimpanan produk ikan patin filet.

Penyimpanan produk ikan sering menggunakan bahan kimia berbahaya yang tergolong *non food grade* misalnya formalin untuk memperpanjang masa simpan produk ikan. Penggunaan formalin pada makanan

dapat mengakibatkan keracunan sehingga perlu upaya lain yang harus dilakukan. Penggunaan pengawet biologi (biopreservatif) menjadi pilihan untuk menjaga keamanan pangan. BAL merupakan salah satu sumber pengawet alami yang telah banyak diteliti (Hafsan 2014). Genus *Lactobacillus* telah diteliti dapat menjadi biopreservatif pada ikan nila merah filet (Oktaviani 2017), dengan demikian BAL asal inasua yaitu *L. plantarum* IN05 dan *L. rhamnosus* IN13 perlu dikaji potensinya sebagai biopreservatif pada ikan filet. Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan supernatan bebas sel netral (SBSN), supernatan bebas sel (SBS), dan biomassa sel (SB) bakteri dari isolat *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* IN05 serta formalin dalam penyimpanan ikan patin filet.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Isolat *L. plantarum* IN05 dan *L. rhamnosus* IN13 hasil isolasi dari produk fermentasi ikan (inasua) asal Maluku Tengah (Mahulette *et al.* 2016) dan bakteri uji *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 yang diperoleh dari *IPB Culture Collection* (IPBCC), ikan patin filet dibeli di supermarket dan ditimbang seberat 10 gram. Bakteri asam laktat ditumbuhkan pada medium *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) (Merck, Jerman), pipet mikro (Thermo Scientific Vantaa).

Metode Penelitian

Penelitian ini meliputi beberapa tahapan, di antaranya produksi senyawa antibakteri, penentuan sensitivitas senyawa antibakteri terhadap bakteri uji, uji konfirmasi senyawa antibakteri dengan penambahan proteinase K, aplikasi senyawa antibakteri pada ikan patin filet, perhitungan total koloni bakteri, *Listeria monocytogenes*, dan bakteri asam laktat, serta pengukuran nilai pH ikan patin filet. Kemudian data perhitungan total koloni bakteri, *Listeria monocytogenes*, dan bakteri asam laktat, serta pengukuran nilai pH ikan patin filet.

Produksi senyawa antibakteri (Monafathia *et al.* 2018; Maulidayanti *et al.* 2019; Ogunbanwo *et al.* 2003)

Isolat *L. plantarum* IN05 dan *L. rhamnosus* IN13 yang telah diremajakan selanjutnya diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam media *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) cair 10 mL, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam untuk *L. rhamnosus* IN13, dan 24 jam *L. plantarum* IN05. Setelah itu diambil sebanyak 0,5 mL (1%) dan diinokulasikan kembali pada medium MRS cair sebanyak 50 mL. Kultur cair diinkubasi selama 30 jam untuk *L. rhamnosus* IN13, dan 24 jam *L. plantarum* IN05.

Supernatan bebas sel netral (SBSN) dihasilkan dengan cara memisahkan antara supernatan dan endapan bakteri sebanyak 1 mL menggunakan sentrifugator pada kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dinetralkan pada pH 6,5 dengan penambahan 1 M NaOH, selanjutnya supernatan disaring dengan menggunakan *milipore* 0,22 µm agar sel bakteri dapat tersaring, sedangkan supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi tanpa dinetralkan menggunakan 1M NaOH merupakan supernatan bebas sel (SBS).

Produksi biomassa (SB) *L. plantarum* IN05 dan *L. rhamnosus* IN13 dilakukan dengan menginokulasikan ke dalam media MRS cair 10 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam untuk *L. rhamnosus* IN13, dan 24 jam *L. plantarum* IN05. Setelah itu diambil sebanyak 0,5 mL (1%) dan diinokulasikan kembali pada medium MRS cair sebanyak 50 mL. Kultur cair diinkubasi selama 30 jam untuk *L. rhamnosus* IN13, dan 24 jam *L. plantarum* IN05. Biomassa dihasilkan dengan mengencerkan endapan dari inokulum yang telah disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit menggunakan NaCl fisiologis.

Penentuan sensitivitas senyawa antibakteri terhadap bakteri uji (Apsari *et al.* 2019; Bauer *et al.* 1966)

Penentuan aktivitas senyawa antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram. Bakteri uji *L. monocytogenes* diinokulasi dan diinkubasi sampai dengan

kepadatan sel 106 CFU/mL, sebanyak 100 μ L diinokulasikan pada medium NA dengan menggunakan teknik cawan tuang. Sebanyak 20 μ L bakteriosin diteteskan di atas kertas cakram berukuran 6 mm pada medium yang telah diinokulasi bakteri uji dan sudah padat, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas senyawa antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Indeks penghambatan dihitung untuk mengetahui aktivitas senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri.

$$\text{Indeks Penghambatan (IP)} = \frac{\text{Diameter zona hambat (mm)} - \text{Diameter kertas cakram (mm)}}{\text{Diameter kertas cakram (mm)}}$$

Uji konfirmasi senyawa antibakteri dengan penambahan proteinase K (Kusmarwati 2014; Savadogo *et al.* 2004)

Uji konfirmasi senyawa antibakteri terhadap proteinase K dilakukan untuk memastikan aktivitas penghambatan oleh senyawa antibakteri terhadap bakteri uji disebabkan oleh senyawa protein bakteriosin. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan sebanyak 20 μ L proteinase K (1 mg/mL) dalam 200 μ L ekstrak kasar bakteriosin dan dihomogenkan, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas penghambatan diuji terhadap bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan isolat bakteri merupakan senyawa protein.

Aplikasi senyawa antibakteri pada ikan patin filet (Yulinery *et al.* 2009; Sudalayandi dan Manja 2012; Cosansu *et al.* 2011)

Ikan patin filet yang telah didapat kemudian dibilas menggunakan akuades steril. Filet kemudian ditimbang seberat 10 g dan diletakkan dalam stoples steril. Bakteri uji *L. monocytogenes* dengan kepadatan 106 CFU/mL sebanyak 5 mL dilumurkan pada filet ikan. Selanjutnya, perlakuan yang diberikan pada filet ikan patin ada enam, yang pertama dengan penambahan supernatan bebas sel netral (SBSN) sebanyak 6 mL. Perlakuan kedua filet ditambahkan supernatan bebas sel (SBS) sebanyak 6 mL, perlakuan ketiga dilakukan

dengan menambahkan biomassa sel bakteri (SB) sebanyak 6 mL. Perlakuan keempat yaitu penambahan formalin (F) sebanyak 6 mL sebagai kontrol positif, dan perlakuan kelima yaitu kontrol negatif dengan menambahkan akuades (A) sebanyak 6 mL. Perlakuan terakhir yaitu ikan patin filet yang ditambahkan akuades tetapi tanpa penambahan bakteri uji *L. monocytogenes* (ATL) yang bertujuan untuk membandingkan kondisi ikan patin filet tanpa adanya penambahan senyawa antibakteri. Seluruh perlakuan filet ikan patin kemudian direndam selama 10 menit. Sampel kemudian dikemas dalam plastik HDPE steril dan diberi label, selanjutnya disimpan pada refrigerator dengan suhu 4 \pm 1°C. Penyimpanan dilakukan selama 14 hari. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pada 0, 7, dan 14 hari dengan analisis yang dilakukan adalah total koloni bakteri, total bakteri *L. monocytogenes*, total bakteri asam laktat (BAL), dan pengukuran nilai pH ikan patin filet.

Perhitungan total koloni bakteri, *L. monocytogenes*, dan bakteri asam laktat (SNI (2006); SNI (2017))

Perhitungan total koloni bakteri, koloni *L. monocytogenes*, dan BAL dilakukan dengan menimbang sebanyak 10 g sampel ikan patin filet dihaluskan dan dilarutkan ke dalam 90 mL NaCl fisiologis hingga pengenceran 10⁻⁵. Sebanyak 1 mL dituang ke dalam cawan lalu ditambahkan medium *Nutrient Agar* (NA) untuk menumbuhkan semua koloni bakteri sebanyak 15 mL, medium *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) untuk menumbuhkan koloni BAL, dan medium *PALCAM Listeria Selective Agar* untuk menumbuhkan koloni *L. monocytogenes*. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah koloni *L. monocytogenes* yang kurang dari 10 koloni mengacu pada SNI (2017). Jumlah koloni yang dihitung antara 25-250 koloni dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_2) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan:

N= jumlah koloni (/g)

ΣC = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

d= pengenceran

Pengukuran nilai pH ikan patin filet (AOAC 1995)

PSampel ikan diukur menggunakan pH meter. Instrumen dikalibrasi dengan bufer. Sampel ikan ditimbang 10 g dan dihancurkan, kemudian ditambah akuades 90 mL dan dihomogenkan, sampel dipindahkan ke dalam gelas ukur, pH meter dicelupkan ke dalam sampel. Nilai pH diperoleh dengan membaca skala yang tertera pada pH meter.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor (waktu dan perlakuan) dan dianalisis menggunakan SPSS 28.0.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sensitivitas Senyawa Antibakteri

Pengujian sensitivitas senyawa antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan penghambatan senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh BAL dalam menghambat bakteri *L. monocytogenes*. Isolat *L. rhamnosus* IN13 mampu menghasilkan indeks penghambatan dari senyawa antibakteri SBS sebesar 0,83. Indeks penghambatan terbesar dari senyawa antibakteri isolat *L. plantarum* IN05 dihasilkan dari perlakuan SB sebesar 0,33 (Table 1).

Diameter zona hambat yang dihasilkan SBS tertinggi dapat disebabkan oleh asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, atau senyawa antibakteri lain yang terkandung dalam supernatan bebas sel sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji

(Desniar *et al.* 2020). Supernatan bebas sel yang dinetralkan (SBSN) dari *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* IN05 mampu menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes*. Supernatan yang dinetralkan pH-nya menggunakan NaOH 1 M bertujuan untuk menghilangkan efek asam organik yang dihasilkan oleh BAL, sehingga zona hambat yang terbentuk ialah dari potensi BAL menghasilkan bakteriosin (Maulidayanti *et al.* 2019).

Konfirmasi Senyawa Antibakteri dengan Penambahan Proteinase K

Pengujian konfirmasi dengan penambahan proteinase K dilakukan untuk memastikan bahwa aktivitas penghambatan yang dihasilkan BAL (SBSN) merupakan aktivitas bakteriosin dan bukan dari senyawa lain. Bakteriosin berupa polipeptida dapat terdegradasi oleh enzim proteolitik Proteinase K (Sunaryanto dan Tarwadi 2005), sehingga pertumbuhan bakteri uji tidak mampu untuk dihambat, dan ditandai dengan tidak terbentuk zona hambat. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan SBSN yang dihasilkan dari kedua isolat BAL yang telah ditambahkan proteinase K tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, hal itu ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat (Table 2). Perlakuan SBS+Proteinase K yang menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini menunjukkan adanya senyawa lain selain bakteriosin yang dihasilkan BAL dalam menghambat *L.monocytogenes*, misal asam organik dan hidrogen peroksida (Desniar *et al.* 2020).

Table 1 Sensitivity test of isolates producing antimicrobial compounds against test bacteria

Treatment	Inhibition Index
Neutralized cell-free supernatant (SBSN) <i>L. rhamnosus</i> IN13	0.67±0.01
Neutralized cell-free supernatant (SBSN) <i>L. plantarum</i> IN05	0.17±0.01
Cell-free supernatant (SBS) <i>L. rhamnosus</i> IN13	0.83±0.01
Cell-free supernatant (SBS) <i>L. plantarum</i> IN05	0.17±0.01
Bacterial cell biomass (SB) <i>L. rhamnosus</i> IN13	0.67±0.01
Bacterial cell biomass (SB) <i>L. plantarum</i> IN05	0.33±0.01
Chloramphenicol 100 ppm	1±0.01
Aquadest	-

Table 2 Confirmation test results for antimicrobial compounds produced by LAB with the addition of proteinase K to *L. monocytogenes*

Treatment	Inhibition Index
SBSN <i>L. rhamnosus</i> IN13+ Proteinase K	-
SBSN <i>L. plantarum</i> IN05 + Proteinase K	-
SBS <i>L. rhamnosus</i> IN13 + Proteinase K	0.33±0.01
SBS <i>L. plantarum</i> IN05 + Proteinase K	0.33±0.01
Proteinase K	-

Total Koloni Bakteri

Hasil interaksi antara perlakuan dengan lama waktu penyimpanan isolat *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* IN05 memiliki pola interaksi yang sama, interaksi perlakuan SBSN, dan SBS dengan lama waktu penyimpanan memiliki pengaruh terhadap jumlah total bakteri pada ikan patin filet. Interaksi perlakuan SBSN dan SBS pada hari ke-0 dan 14 tidak memiliki pengaruh yang nyata, sedangkan interaksi perlakuan SBSN dengan lama waktu penyimpanan hari ke-7 berbeda nyata, artinya interaksi ini memiliki pengaruh terhadap total bakteri, nilai total bakteri pada perlakuan SBSN dan SBS secara berturut-turut ialah 5,55 log CFU/g dan 5,73 log CFU/g. Menurut BSN (2006) (SNI 01-2696-2006), nilai TPC ikan segar ialah maksimal 5×10^5 CFU/g atau 5,69 log CFU/g (Figure 1).

Perlakuan F sebagai kontrol positif dengan lama waktu penyimpanan memiliki pengaruh terhadap nilai total bakteri. Perlakuan F berpengaruh nyata terhadap total bakteri

L. monocytogenes karena pada formalin terdapat unsur aldehida yang memiliki sifat mudah bereaksi dengan protein dan berikatan dengan unsur protein pada seluruh bagian ikan patin filet, sehingga protein ikan patin tidak dapat dijadikan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri lain (Rong *et al.* 2015). Mekanisme formalin sebagai pengawet makanan yaitu dengan cara mengkoagulasi protein atau tergabung dengan asam amino bebas dari protoplasma sel. Formaldehid merupakan senyawa antibakteri yang mampu menginaktivasi protein dengan cara mengkondensasi dengan amino bebas dalam protein menjadi campuran lain (Sulistiani dan Handayani 2018).

Total Bakteri *L. monocytogenes*

Hasil perhitungan total bakteri *L. monocytogenes* menunjukkan bahwa interaksi senyawa antibakteri dengan semua lama waktu penyimpanan dari kedua isolat BAL memiliki pola interaksi yang sama, yaitu interaksi antara perlakuan F, A, SB, dan ATL

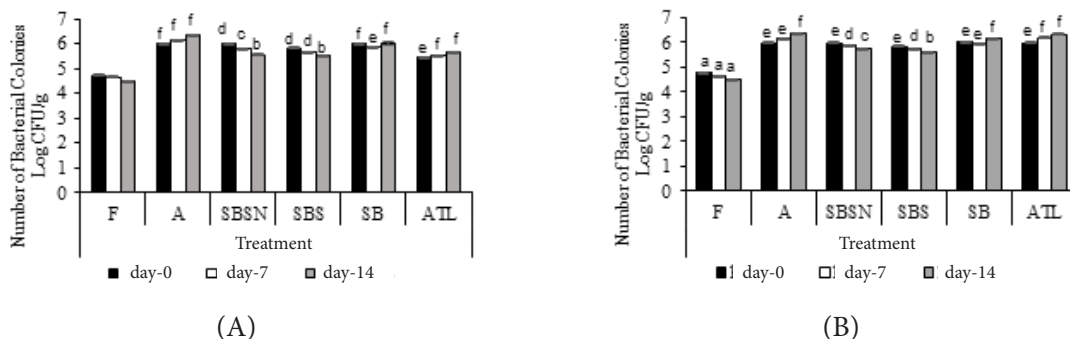


Figure 1 Total bacterial colonies of catfish filet treated with antimicrobial compounds from isolates (A) *L. rhamnosus* IN13, and (B) *L. plantarum* IN05. Information: F= formalin administration (Control+), A= distilled water (Control-), SBSN= neutralized cell-free supernatant, SBS= cell-free supernatant, SB= bacterial cell biomass, ATL= distilled water without *L. monocytogenes*.

dengan semua waktu penyimpanan tidak memberi pengaruh terhadap total bakteri *L. monocytogenes*. Interaksi perlakuan SBSN dan SBS dengan lama waktu penyimpanan 14 hari memberikan pengaruh terhadap total bakteri *L. monocytogenes*. Total bakteri *L. monocytogenes* pada perlakuan SBSN memiliki nilai 5,32 log CFU/g dan pada perlakuan SBS ialah 5,46 log CFU/g (Figure 2).

Total Bakteri Asam Laktat

Nilai total BAL pada isolat *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* memiliki pola yang sama, interaksi perlakuan F, A, SB, dan ATL tidak memberikan pengaruh terhadap nilai total BAL, pada perlakuan SBS dan SBSN memiliki pengaruh terhadap nilai total BAL. Interaksi perlakuan dengan lama waktu penyimpanan pada SBSN memiliki pengaruh terhadap nilai total BAL pada hari ke-14 dibandingkan perlakuan SBS (Figure 3).

Nilai total BAL pada perlakuan SBSN sebesar 4.16 log CFU/g dan telah terjadi penurunan dari nilai total BAL sebelumnya. Penurunan ini dapat disebabkan oleh menurunnya nilai total koloni bakteri dan total bakteri *L. monocytogenes* oleh senyawa antibakteri dari SBSN yang diduga adalah bakteriosin. Penurunan nilai total koloni bakteri, *L. monocytogenes* oleh SBSN juga akan menurunkan nilai total BAL karena sifat SBSN yang netral sehingga tidak terbentuknya efek asam. Interaksi perlakuan SBS dengan lama

waktu penyimpanan 14 hari berpengaruh terhadap nilai total BAL karena adanya efek asam yang terbentuk dari asam organik yang dihasilkan oleh BAL (Costa *et al.* 2018), oleh karena itu pada nilai total koloni bakteri dan nilai total *L. monocytogenes* menurun karena aksi dari SBS yang mengandung senyawa antibakteri asam organik.

Nilai pH Ikan Patin Filet

Nilai pH ikan patin filet pada interaksi antara perlakuan dengan lama waktu penyimpanan, bahwa pada perlakuan F, A, dan ATL pada semua waktu penyimpanan tidak memberikan pengaruh terhadap nilai pH, tetapi perlakuan SBSN, SBS, dan SB memiliki pengaruh terhadap nilai pH ikan patin filet. Pola interaksi ini terlihat sama pada kedua isolat BAL. Interaksi perlakuan SBS dengan masing-masing lama waktu penyimpanan memiliki pengaruh terhadap nilai pH, perlakuan SBS memberikan efek asam dari asam organik yang dihasilkan oleh BAL, nilai pH yang menurun selama waktu penyimpanan berkorelasi dengan nilai total BAL yang semakin meningkat, nilai total koloni bakteri, dan nilai total *L. monocytogenes* menurun selama masa penyimpanan ikan patin filet. Hal ini membuktikan bahwa SBS merupakan senyawa antibakteri yang dapat mengurangi nilai total koloni bakteri dan nilai total *L. monocytogenes*. Asam organik mampu berdifusi melalui membran plasma

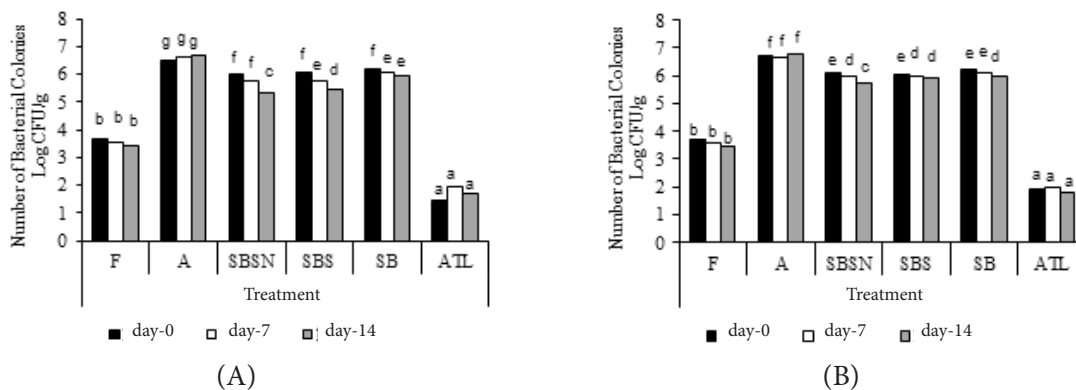


Figure 2 Total bacteria *L. monocytogenes* catfish fillet treated with antimicrobial compounds from isolates (A) *L. rhamnosus* IN13, and (B) *L. plantarum* IN05. Information: F= formalin administration (Control +), A= distilled water (Control -), SBSN= neutralized cell-free supernatant, SBS= cell-free supernatant, SB= bacterial cell biomass, ATL= distilled water without *L. monocytogenes*.

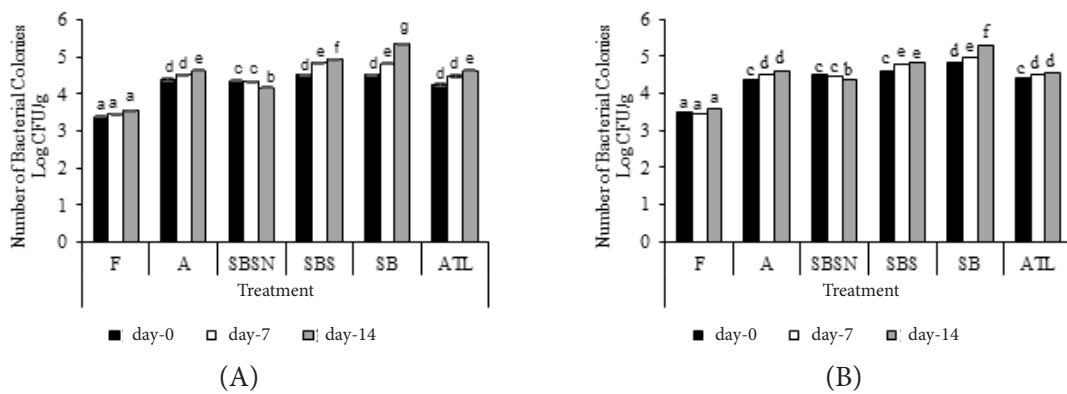


Figure 3 Total LAB of catfish fillet treated with antimicrobial compounds from isolates (A) *L. rhamnosus* IN13, and (B) *L. plantarum* IN05. Information: F= formalin administration (Control +), A= distilled water (Control -), SBSN= neutralized cell-free supernatant, SBS= cell-free supernatant, SB= bacterial cell biomass, ATL= distilled water without *L. monocytogenes*.

mikroorganisme patogen dan menghambat glikolisis, karena enzim kunci dalam jalur ini sensitif terhadap pH rendah (Stoyanova *et al.* 2012).

Interaksi perlakuan SBSN dengan lama waktu penyimpanan memiliki pengaruh yang berbeda. Nilai pH ikan patin filet pada waktu penyimpanan hari ke-0, ke-7, dan ke-14 berturut-turut 6,93, 6,63, dan 6,37 (Figure 4), nilai pH dari hasil tersebut masih dalam rentang nilai pH kategori ikan segar menurut (Kayim dan Can 2010) yakni berkisar 6,2-7,0. Nilai pH tersebut berkorelasi dengan nilai total koloni bakteri dan nilai total bakteri

L. monocytogenes yang cenderung menurun selama masa penyimpanan. Maulidayanti *et al.* (2019) menyatakan bahwa senyawa antibakteri pada SBSN berupa bakteriosin dari isolat *L. rhamnosus* IN13 memiliki aktivitas optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L. monocytogenes* pada pH 6, 7, dan 8. Bakteriosin dari isolat *L. rhamnosus* IN13 juga memiliki karakteristik stabil pada pH 2 sampai dengan 10, stabil terhadap penambahan garam, dan stabil terhadap beberapa surfaktan. Faktor pH memiliki peranan penting dalam menentukan keamanan pangan sebagai bahan pengawet

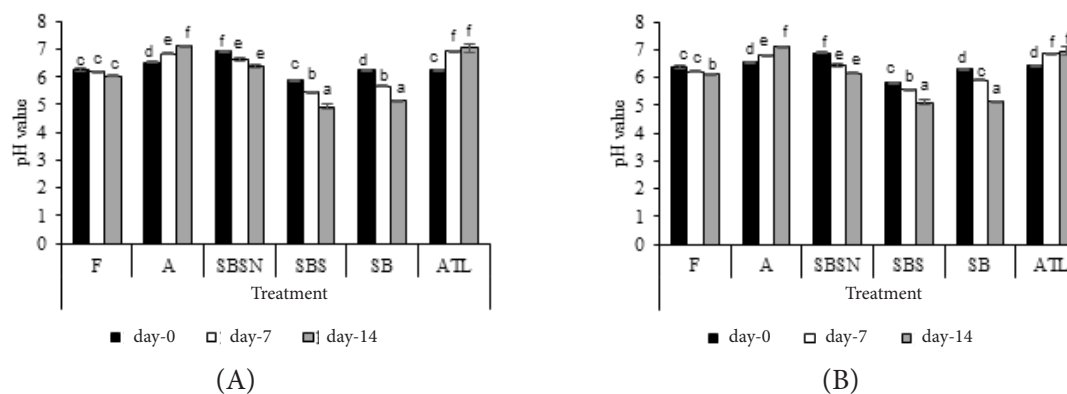


Figure 4 The pH value of catfish fillet treated with antimicrobial compounds from isolates (A) *L. rhamnosus* IN13, and (B) *L. plantarum* IN05. Information: F= formalin administration (Control +), A= distilled water (Control -), SBSN= neutralized cell-free supernatant, SBS= cell-free supernatant, SB= bacterial cell biomass, ATL= distilled water without *L. monocytogenes*.

makanan (Usmiati 2007). Kemampuan bakteriosin yang stabil pada pH netral cocok diaplikasikan pada prosuk pangan dan dapat menjadi pilihan pengganti nisin yang diketahui hanya aktif pada pH 5,0 dan 5,5 (Gautam *et al.* 2014). Kemampuan stabilitas bakteriosin pada kisaran pH yang luas diperlukan dalam aplikasi berbagai jenis pangan, baik pangan dengan tingkat keasaman tinggi, netral maupun rendah (Costa *et al.* 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aplikasi senyawa antibakteri berupa supernatan bebas sel netral (SBSN), supernatan bebas sel (SBS), dan biomassa sel bakteri (SB) dari isolat *L. rhamnosus* IN13 dan *L. plantarum* IN05 mampu menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes* untuk pengawetan ikan patin filet. Penggunaan SBSN dari kedua bakteri asam laktat dengan lama penyimpanan 14 hari merupakan perlakuan senyawa antibakteri terbaik untuk pengawetan ikan patin filet yang terkontaminasi *L. monocytogenes* dibandingkan perlakuan SBS dan SB. Perlakuan SBSN tidak menurunkan pH hingga 5,0 seperti pada SBS dan SB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh dana penelitian dari Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun 2020 Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Kontrak No. 3/EI/KP.PTNBH/2019 tanggal 29 Maret 2019 Kepada Dr. Nisa Rachmania, M.Si).

DAFTAR PUSTAKA

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemist. Virginia (US): The Association of Analytical Chemist. Inc. Washington DC:AOAC.

Apsari PP, Budiarti S, Wahyudi AT. 2019. Actinomycetes of rhizosphere soil producing antibacterial compounds against urinary tract infection bacteria. *Biodiversitas Journal of Biological*

Diversity. 20 (5):1259-1265].

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. SNI-01-2332.3-2006. 2006. Cara Uji mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan angka lempeng total (ALT) pada produk perikanan. Jakarta (ID):Badan Standardisasi Nasional.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. SNI ISO 7218:2012. 2017. *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan-Persyaratan umum dan pedoman untuk pengujian mikrobiologi*. Jakarta (ID):Badan Standardisasi Nasional.

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45(4): 493-496.

Beristain BSC, Mani LE, Palou E, Lopez MA. 2016. Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Food Control*. 62:44-51.

Breton DA, Lopez EM, Palou E, Malo AL. 2020. Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Journal of Food Control*. 115 (1):1-11.

Buchanan R, Gorris L, Hayman M, Jackson T, Whiting R. 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose response, ecology, and risk assessments. *Journal of Food Control*. 5:1-13.

Cosansu S, Mol S, Alakavuk DU, Tosun SY. 2011. Effects of *Pediococcus* spp. on Quality of vacuum-paced horse mackerel during cold storage. *Journal of Agricultural Science*. 17:59-66.

Costa WKA, Souza GT, Brandao LR, Lima RC, Garcia EF, Lima M. 2018. Exploiting antagonistic activity of fruit-derived *Lactobacillus* to control pathogenic bacteria in fresh cheese and chicken meat. *Food Research International*. 108:172-182.

Desniar, Rusmana I, Suwanto A, Mubarik MR. 2020. Organic produced by lactic acid bacteria from bekasam as food biopreservatives. *IOP Conference Series*

- Earth and Environmental Science*. 414:1-8.
- Gautam N, Shara N, Ahlawat OP. 2014. Purification and characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus brevis* UN isolated from Dhulliachar: a traditional food product of North East India. *Indian Journal of Microbiology*. 54(2): 185–189.
- Hafsan. 2014. Bakteriosin asal bakteri asam laktat sebagai biopreservatif pangan. *Jurnal Teknosains*. 8 (2):175-184.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2019. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka Tahun 2019*. Jakarta (IDN):Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kayim M, Can E. 2010. The pH and Total Fat Value of Fish Meat in Different Iced Storage Period. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 5 (5):346-348.
- Khader, Abdel SH. 2019. Biopreservation of fresh fish fillets using bacteriosins and some organic acid salts. *Journal of Food Science*. 10 (2):201-208.
- Kusmarwati A, Indriati N, Hermana I. 2014. Production and characterization bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from rusip. *Squalen*. 8(1):13-22.
- Lebow NK, Desrocher LD, Younce FL, Zhu MJ, Ross CF, Smith DM. 2017. Influence of high-pressure processing at low temperature and nisin on *Listeria innocua* survival and sensory preference of dry-cured cold-smoked salmon. *Journal of Food Science*. 82:2977–2986.
- Mahulette F, Mubarik NR, Suwanto A, Widanarni. 2016. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from inasua. *Journal of Tropica Biodiversity dan Biotechnology*. 1:71-76.
- Mahulette F, Mubarik NR, Suwanto A, Widanarni. 2018. Diversity of lactic acid bacterial in inasua fermentation. *Iran Journal of Microbiology*. 10(5):314-323.
- Maulidayanti S, Mubarik NR, Suryani. 2019. Characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus* IN13 isolated from inasua, a fermented fish from Central Maluku, Indonesia. *International Food Research Journal*. 26 (5): 1557-1563.
- Mei J, Ma X, Xie J. 2019. Natural Preservatives for extending fish shelf life. *Journal of Foods*. 8: 490.
- Monafathia, Mubarik NR, Widanarni. 2018. Optimization of bacteriocin production from *Lactobacillus plantarum* IN05 by using response surface methodology. *Pakistan Journal of Biotechnology*. 15 (3):785-791.
- Ogunbanwo ST, Sanni AI, Onilude AA. 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*. 2(8):219-227.
- Oktaviani I, Palupi NW. 2017. Pengolahan ikan patin menjadi produk makanan patin presto, bakso, dan nugget di Semboro-Jember. *Jurnal Abdi*. 2 (2): 40-44.
- Rong CAO, Qi LIU, Shengjun CHEN, Xianqing YANG, Laiho Li. 2015. Application of lactic acid bacteria (LAB) in freshness keeping of tilapia fillets as sashimi. *Journal of Ocean University of China*. 14 (4): 675-680.
- Sarika AR, Lipton AP, Aishyarwa MS. 2019. Biopreservative efficacy of bacteriocin GPI of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 on stored fish fillets. *Frontiers Nutrition*. 6 (29):1-7.
- Savadogo AATQ, Cheik HNB, Imael, Traore. 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria isolated from Burkina Faso fermented milk. *Pakistan Journal Nutrition*. 3:174-179.
- Stoyanova LG, Ustyugova EA, Netrusov AI. 2012. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 48(3):229–243.
- Sudalayandi K, Manja KS. 2012. Repressive efficacy of lactic acid bacteria against the human pathogenic and fish-borne spoilage microbiota of fresh Indian mackerel fish chunks. *African Journal Biotechnology*. 11(90):5695-15701.
- Sulistiani, Handayani R. 2018. Application biopreservative produce by lactic acid bacteria (LAB) for preservation boiled-

- salted (pindang) Tuna (*Euthynnus affinis* Cantor, 1849). *AIP Conference Proceedings* 020059: 1-8
- Sunaryanto R, Tarwadi. 2005. Isolation and characterization of bacteriocin from *Lactobacillus lactis* isolated from marine sediment. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*.10(1):11-18.
- Thi TAN, Nosedo B, Samapundo S, Nguyen BL, Broekaert K, Rasschaert G. 2013. Microbial ecology of Vietnamese Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets 487 during processing. *International Journal of Food Microbiology*. 167:144-152.
- Usmiati S, Marwati T. 2007. Seleksi dan optimasi proses produksi bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. *Jurnal Pascapanen*. 4(1):27-37.
- Yulinery T, Petria Y, Nurhidayat N. 2009. Penggunaan antibakteria dari isolate *Lactobacillus* terseleksi sebagai bahan pengawet alami untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada fillet ikan kakap. *Berkala Penelitian Hayati*. 15:85-92.