

Bakteri Asam Laktat dari Peda, Bekasam, Terasi dan Rusip Penghambat *Morganella Morganii* (Pembentuk Histamin)

Lactic Acid Bacteria from the Peda, Bekasam, terasi and Morganella Morganii Rusip inhibitors (Histamine Forming)

Rinto

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya
Jln. Palembang-Prabumulih KM. 32 Indralaya, Ogan Ilir Sumatera Selatan
Telp: 0711-580934 email: rinto_thi@yahoo.co.id

ABSTRACT

The aim of this research is find out the lactic acid bacteria (LAB) from peda, bekasam, terasi and rusip which had antagonis by *Morganella morganii* (histamin producer bacteria). The result was that the number isolate from peda was 3 ($1P_1 10^4$, $3P_1 10^4$, $2P_2 10^4$), bekasam was 7 ($1B_1 10^4$, $2B_1 10^4$, $1B_2 10^4$, $2B_2 10^4$, $3B_2 10^4$, $1B_1 10^5$, $2B_1 10^5$), terasi was 4 ($1T_1 10^4$, $2T_1 10^4$, $3T_1 10^4$) and rusip was 5 isolates ($1R_1 10^3$, $2R_1 10^3$, $3R_1 10^3$, $1R_1 10^4$, $1R_2 10^4$). All the isolates was bacill, gram positive, and negative catalase. The isolate which had biggest of clear zone was $3B_1 10^4$ and $1T_1^1 10^4$, with the diameter of clear zone was 1.725 cm and 1.300 cm.

Keywords: Antagonis, Lactic acid bacteria, *Morganella morganii*

Diterima: 05-02-2011, disetujui: 28-04-2011

PENDAHULUAN

Proses kemunduran mutu pada ikan-ikan *scombroid* biasanya diiringi dengan terbentuknya biogenik amin, seperti histamin yang dapat bersifat racun bagi manusia. Histamin merupakan biogenik amin berbahaya bagi kesehatan yang dapat menyebabkan keracunan *scombroid*. (US FDA, 2001). Sebagian besar histamin terbentuk pada ikan-ikan golongan *scombroidae* misalnya tuna, tongkol, tenggiri, dan kembung. Banyaknya kandungan histidin bebas pada golongan ikan *scombroidae* yang lebih dari 500mg/100g daging ikan (Kime *et al.*, 2002), serta aktivitas dekarboksilasi histidin oleh bakteri-bakteri pembusuk merupakan faktor penentu terbentuknya histamin pada ikan segar (Rodriguez-Jerez, *et al.*, 1994).

Morganella morganii adalah bakteri yang diindikasikan paling besar membentuk histamin pada ikan golongan *scombroidae* dan mempunyai kemampuan untuk membentuk histamin yang berbeda pada berbagai jenis ikan. Pada ikan *mackerel*, *Morganella morganii* merupakan bakteri yang membentuk histamin terbanyak dengan berbagai perlakuan variasi suhu (Kim *et al.*, 2002). Pada suhu 25 sampai 37°C proses pembentukan histamin oleh *Morganella morganii* berlangsung sangat cepat. Hal ini seiring dengan pertumbuhan bakteri yang juga optimal pada suhu tersebut. Sedangkan

pada suhu 15°C pembentukan histamin mulai terhambat, dan suhu di bawah 4°C histamin masih terbentuk namun tidak lebih dari 8mg/100g daging ikan (Kim *et al.*, 2002).

Beberapa bakteri asam laktat diketahui mampu menjadi biokontrol untuk meningkatkan kualitas bahan pangan (Rahayu, 2003). *Pediococcus acidilactici* F-11 diketahui dapat menghambat pembentukan histamin oleh bakteri selama fermentasi peda (Rinto, 2006). Josten dan Nunez (1996) menyatakan bahwa *Lactococcus lactis* menghasilkan bakteriosin (nisin) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk histamin seperti *Lactobacillus buchneri* dan *Lactobacillus brevis*. *Lactococcus lactis* merupakan bakteri asam laktat yang berperan dalam proses fermentasi. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan isolasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi, seperti peda, bekasam, terasi, dan rusip yang berpotensi menghambat *Morganella morganii* (bakteri pembentuk histamin).

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel peda, bekasam, terasi, dan rusip, media yang digunakan adalah: *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRS) (Oxoid), *Nutrient broth* (NB) (Oxoid), *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid), CaCO₃, NaCl 0,85%, aquades, susu skim, dan gliserol. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah autoclave, inkubator, mikropipet volumetrik, tabung reaksi dan cawan petri.

Cara Kerja

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: Sampel (peda, bekasam, terasi, dan rusip) sebanyak 50gram ditambahkan dengan aquades steril sebanyak 250mL, kemudian dihomogenisasi menggunakan *stomacer*. Isolat bakteri asam laktat yang diduga ada pada peda, bekasam, terasi, dan rusip ditumbuhkan pada media MRS+CaCO₃. Bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRS+CaCO₃ akan membentuk koloni dengan zona jernih di sekitar koloni. Koloni yang ada, dimurnikan dengan metode goresan pada media MRS. Satu koloni yang dianggap murni, dikembangkan pada media agar miring untuk penyimpanan. Sebelum dilakukan pengujian antagonis terhadap bakteri pembusuk dan patogen, isolat yang ada diperiksa kemurniannya dengan cara melihat keseragaman bentuk sel (batang, bulat, dan koma) dengan mikroskop, kemudian dilakukan uji pewarnaan gram dan uji katalase bakteri. Hal ini dilakukan agar benar-benar diperoleh bakteri asam laktat.

Uji Antagonis (penghambatan) BAL terhadap *Morganella morganii*

Uji penghambatan dilakukan dengan mengikuti metode sumuran (*well diffusion agar*) yang dikembangkan Biswas, *et al.* (1991). Tahapan dalam penelitian ini sebagai berikut: BAL hasil seleksi diambil sebanyak 1 ose dan ditumbuhkan pada media MRS cair (5ml), kemudian diinkubasi pada 30-37°C selama 16-24 jam. Pengujian dimulai dengan menuangkan 10ml medium NA lunak yang telah diinokulasikan dengan bakteri penghasil pembusuk sebanyak 1µl dari kultur murni dan disimpan dalam refrigerator selama 1 jam, dibiarkan sampai padat. Setelah 1 jam, suspensi BAL yang telah disiapkan sebelumnya diambil sebanyak 25µl dan diteteskan pada sumuran, selanjutnya diinkubasi pada 36°C selama 18-24 jam. Bakteri asam laktat yang menghasilkan zona jernih dipilih. Penghambatan BAL ditunjukkan oleh zona jernih yang terbentuk pada media uji antagonis.

Uji pola pertumbuhan BAL pada suhu ruang dan suhu kamar

Tahap penelitian uji pola pertumbuhan adalah sebagai berikut: bakteri asam laktat yang mampu menghambat bakteri pembentuk histamin ditumbuhkan pada media MRS cair dan disimpan dalam suhu dingin (0-5)^oC dan suhu ruang (25-30)^oC. Pola pertumbuhan sel ditentukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada media MRS padat (*Total Plate count*), setiap 3 jam selama 24 jam.

Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif sehingga dapat dijelaskan/digambarkan berbagai isolat bakteri asam laktat yang mampu menghambat bakteri pembentuk histamin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Media MRS+CaCO₃ merupakan media selektif bagi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRS-CaCO₃ ditunjukkan oleh koloni dengan zona jernih disekitar koloninya. Hal ini menunjukkan telah terbentuk asam laktat pada bakteri tersebut. Dari sekian banyak isolat bakteri asam laktat yang tumbuh, beberapa koloni yang memiliki perbedaan bentuk dipilih untuk uji selanjutnya. Pada pada terdapat 3 isolat (1P₁ 10⁴, 3P₁ 10⁴, 2P₂ 10⁴), bekasam 7 isolat 1B₁ 10⁴, 2B₁ 10⁴, 1B₂ 10⁴, 2B₂ 10⁴, 3B₂ 10⁴, 1B₁ 10⁵, 2B₁ 10⁵), Terasi 4 isolat (1T₁ 10⁴, 2T₁ 10⁴, 3T₁ 10⁴) dan rusip 5 isolat (1R₁ 10³, 2R₁ 10³, 3R₁ 10³, 1R₁ 10⁴, 1R₂ 10⁴). Pemurnian dilakukan terhadap 19 isolat terpilih dengan menggunakan media MRS agar. Metode yang digunakan adalah metode *streak quadrant*. (Atlas, 2001).

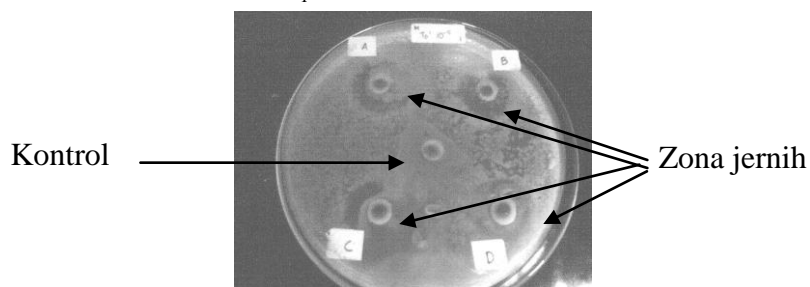
Uji Penguat Dugaan Bakteri Asam Laktat

Uji penguat dugaan adakah bakteri asam laktat digunakan untuk menentukan bakteri dari isolat terpilih termasuk golongan bakteri asam laktat atau tidak,yaitu dugaan meliputi pewarnaan gram, morfologi koloni bakteri dan uji katalase. Hasil uji menunjukkan bahwa ke-19 isolat berbentuk batang, gram (+), dan katalase negatif,maka disimpulkan bahwa semua isolat termasuk bakteri asam laktat.

Uji Antagonis BAL terhadap Bakteri Pembentuk Histamin

Morganella morganii merupakan bakteri pembentuk histamin terbesar dan terbanyak di ikan-ikan *scombroid*. Adanya zona hambat (*clear zone*) yang dibentuk oleh bakteri asam laktat di sekitar sumuran menunjukkan ada penghambatan pertumbuhan BAL terhadap bakteri pembentuk histamine. Kemampuan penghambatan BAL terhadap bakteri pembentuk histamine (*Morganella morganii*) dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa dari 19 isolat bakteri asam laktat terdapat 3 isolat yang yang menghasilkan zona hambat, yaitu isolat 2B₁ 10⁴, 3B₁ 10⁴ dan 1T₁ 10⁴. Berdasarkan zona hambatnya, isolat terbaik adalah isolat 3B₁ 10⁴



Gambar 1. Zona hambat bakteri asam laktat terhadap *Morganella morganii*

Tabel 1. Diameter zona hambat BAL dari peda dan bekasam terhadap *Morganella morganii*

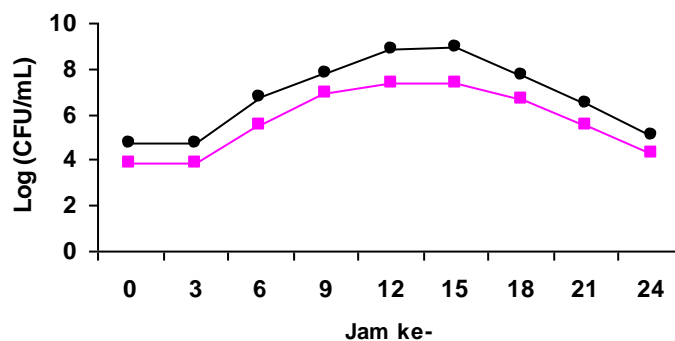
No	BAL	Zona hambat	No	BAL	Zona hambat
1	1P ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat	11	1T ₁ 10 ⁴	1,3
2	2P ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat	12	2T ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat
3	3P ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat	13	3T ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat
4	1P ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat	14	1T ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat
5	2P ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat	15	1R ₁ 10 ³	Tidak menghambat
6	3P ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat	16	2R ₁ 10 ³	Tidak menghambat
7	1B ₁ 10 ⁴	1,225	17	3R ₁ 10 ³	Tidak menghambat
8	2 B ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat	18	1R ₁ 10 ⁴	Tidak menghambat
9	3B ₁ 10 ⁴ ♦	1,725	19	1R ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat
10	1B ₂ 10 ⁴	Tidak menghambat			

Ket : * = diameter sumuran yaitu 0,7 cm

♦ = isolat terbaik (3B₁ 10⁴)

Pola Pertumbuhan BAL

Hasil pengamatan kurva pertumbuhan 3B₁ 10⁴ seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola pertumbuhan BAL isolat 3B₁10⁴ (-●- suhu ruang (30°C) dan -■- suhu dingin(0-5°C).

Dari Gambar 2, menunjukkan bahwa pola pertumbuhan BAL pada isolat 3B₁10⁴ untuk suhu ruang (30°C) dan suhu dingin (5°C) sama yaitu pada jam ke-0 sampai jam ke-3 mengalami lag (fase adaptasi bakteri terhadap lingkungan baru dan fase bakteri belum berkembang biak), setelah jam ke-3 sampai jam ke-12 mengalami fase eksponensial, setelah jam ke-12 populasi bakteri mencapai maksimum sampai jam ke-15 mengalami fase stasioner, dan setelah jam ke-15 sampai jam ke-24 mengalami fase kematian.

Dari hasil pengamatan, dapat dilihat, bahwa isolat pertumbuhan BAL 2B₁10⁴ pada suhu ruang (30°C). Lebih cepat terjadi dari pada suhu dingin (15°C), yaitu pada jam ke-12 dengan isolat yang sama. Sedangkan isolat B₁10⁴ pada jam ke-15. Namun, isolat tersebut masih dapat tumbuh sehingga kemungkinan isolat 3B₁10⁴ yang terpilih bisa digunakan untuk menghambat bakteri pembentuk histamin selama proses produksi dan penyimpanan ikan segar.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa isolat BAL 3B₁10⁴ merupakan bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan penghambat terbesar terhadap bakteri pembentuk histamin (*Morganella morganii*). dan Pertumbuhan optimum 3B₁ 10⁴ terjadi pada kondisi suhu ruang (30°C).

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. 2001. *Principle of Microbiology*. Second Edition. Wm.C. Brown Publisher.
- Biswas, S.R., P. Ray, M.C. Johnson, dan B. Ray. 1991. *Influence of Growth Condition on the Production of a Bacteriocin, Pediocin AcH, by Pediococcus acidilactici H*. Appl. Environ. Microbiol. 57(4): 1265-1267.
- Josten, H.M.L. dan M. Nunez. 1996. *Prevention of Histamine Formation in Cheese by Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria*. Appl. Envir. Micro. 62 (4) :1178-1181.
- Kim, S.H., R.J. Price, M.T. Morrissey, K.G. Field, C.I. Wei, dan H. An. 2002. *Histamine Production by Morganella morganii in Mackerel, Albacore, Mahi-mahi, dan Salmon at Various Storage Temperature*. J. of Food Science. 67 (4) : 1522-1528.
- Rahayu, E.S. 2003. *Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods in Indonesian Origin*. Agritech. 23(2): 75-84.
- Rinto. 2006. Aplikasi Bakteri Asam Laktat dalam menghambat pembentukan histamin selama fermentasi peda. Seminar dan Diseminasi Teknologi Pengembangan Hasil Perikanan, Bandar Lampung 4-5 Desember 2006.
- Rodriguez-Jerez, J.J., E.I. Lopez-Sabater, A.X. Roig-Sagues, dan M.T. Mora-Ventura. 1994. *Histamin, Cadaverin, and Puterscin Forming Bacteria From Ripened Spanish Semipreserved Anchovies*. Jour. Food Science. 59 (5):998-1001.
- U.S Food and Drug Administration. Juni 2001. *Fish and Fisheries Products: Hazards and Controls Guidance (Scombrototoxin Histamine Formation)*. US FDA.