

Isolation and characterization of lactic acid bacteria in fermented sweet corn (*Zea mays* L) as antibacterial

Rosario Trijuliamos Manalu ^{1*}, Amelia Febriani ¹, Syamsinar ¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Kota Jakarta Selatan, DKI Jakarta, Indonesia

*Correspondence author : rio@istn.ac.id

ABSTRACT. Sweet corn (*Zea mays* L.) is a staple food that is known to produce Lactic Acid Bacteria (LAB) during the fermentation process, LAB is a probiotic bacterium that can produce antimicrobial components. This study aims to examine the characteristics and antibacterial activity of LAB sweet corn against *Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus*. The study was conducted by isolating LAB from corn fermentation spontaneously which then tested the characteristics of the isolates obtained and tested for antibacterial activity. From the isolation results 3 isolates were obtained, namely FJM 1, FJM 2 and FJM 3 with morphological characteristics of rod-shaped and Gram-positive cells and biochemical test results; negative catalase, citrate, indole, motility, VP and positive TSIA. The results of antibacterial activity tests on *E. coli* were obtained respectively at 14.18 mm, 12.38 mm and 11.18 mm and *S. aureus* respectively at 13.05 mm, 11.12 mm and 10.35 mm. All three isolates had strong category antibacterial activity.

Keywords: Sweet corn, Lactic Acid Bacteria, Antibacterial

ABSTRAK. Jagung manis (*Zea mays* L.) adalah makanan pokok yang diketahui menghasilkan Bakteri Asam Laktat (BAL) selama proses fermentasi, BAL merupakan suatu bakteri probiotik yang dapat menghasilkan komponen antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menguji karakteristik dan aktivitas antibakteri BAL jagung manis terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi BAL dari fermentasi jagung secara spontan yang kemudian diuji karakteristik dari isolat yang didapatkan serta diuji aktivitas antibakterinya. Dari hasil isolasi didapatkan 3 isolat yaitu FJM 1, FJM 2 dan FJM 3 dengan karakteristik morfologi sel berbentuk batang dan Gram positif serta hasil uji biokimia; katalase, sitrat, indol, motilitas, Vp negatif dan TSIA positif. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* didapatkan berturut sebesar 14,18 mm, 12,38 mm dan 11,18 mm dan *S. aureus* berturut sebesar 13,05 mm, 11,12 mm dan 10,35 mm. Ketiga isolat memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat.

Kata kunci: Jagung manis, bakteri asam laktat, Anti bakteri



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2021 by author.

1. PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Bakteri ini juga memiliki

kemampuan untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai macam penyakit sehingga menjadikan bakteri ini digolongkan sebagai salah satu probiotik (Lahtinen *et al.*, 2011; Manalu *et al.*, 2020; Rambitan *et al.*, 2018). BAL banyak diperoleh pada produk makanan olahan yang difermentasi, salah satu sumber BAL berasal dari fermentasi bahan makanan, yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sebagai antimikroba sehingga dapat mengontrol pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan (Nudyanto & Zubaidah, 2015; Ray & Bhunia, 2013).

Fermentasi adalah salah satu proses pengolahan makanan yang tradisional namun masih banyak dipakai untuk memperpanjang masa penyimpanan makanan (Juodeikiene *et al.*, 2012). Pada proses fermentasi adanya perubahan karbohidrat dan makromolekul menjadi asam organik menggunakan bakteri dalam kondisi anaerobik. Makanan yang difermentasi terbukti dapat memberikan efek baik bagi tubuh yang dapat meminimalisir risiko penyakit tertentu (Getahun *et al.*, 2016). Penelitian tentang isolasi bakteri asam laktat telah banyak dilakukan terutama pada produk-produk daging mentah, produk susu, produk fermentasi; namun masih jarang yang diisolasi dari buah-buahan dan sayur-sayuran tropis (Ibrahim *et al.*, 2017).

Jagung (*Zea mays L.*) merupakan makanan pokok kedua terpenting di Indonesia, selain itu juga dapat digunakan sebagai bahan tepung, secara tradisional tepung jagung dibuat dengan cara perendaman biji jagung dalam air dan diikuti dengan penggilingan. Selama perendaman terjadi suatu proses fermentasi spontan dan beberapa mikroba seperti BAL dapat tumbuh pada fermentasi tersebut (Rahmawati *et al.*, 2013). Fermentasi spontan merupakan fermentasi tanpa penambahan starter, melainkan dengan mikroflora alami dan mengakibatkan terjadinya perubahan struktur kimia oleh enzim bakteri.

Penelitian pada fermentasi buah markisa terhadap bakteri *Escherichia coli* pada pengamatan yang dilakukan 24 jam selama 3 hari memiliki daya hambat sebesar 13 mm, 14 mm dan 16 mm yang termasuk kategori kuat (Hidayat, 2015). Penelitian lain pada fermentasi biji kakao yang diujikan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki daya hambat sebesar 17 mm dan 15 mm yang memiliki kategori kuat dengan kontrol positif menggunakan ciprofloxacin sebesar 34 mm dan 32 mm (Ismail *et al.*, 2017). Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini akan mengisolasi bakteri asam laktat menggunakan biji jagung (*Zea mays L.*) dan menguji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

2. METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2020 sampai November 2020, yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), Jakarta. Jenis penelitian ini ialah penelitian eksperimental laboratorium, data yang digunakan adalah data primer, yaitu semua data yang diperoleh secara langsung dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti. Selanjutnya data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

Bahan uji yang digunakan adalah fermentasi jagung manis yang diperoleh dari Pasar Induk TU Kemang Bogor, sedangkan bakteri uji *Staphylococcus aureus* diperoleh dari kultur stock Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi, ISTN, dan *Echerichia coli* diperoleh dari Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

Jagung manis dicuci dengan air suling steril dan dibuat menjadi bubur jagung. Kemudian bubur jagung disaring dan bubur jagung yang disimpan dikumpulkan dalam saringan. Setelah itu, bubur jagung dicuci dalam air steril, bagian yang mengambang dan tidak digunakan dibuang, dan ditiriskan selama 30 menit. Fermentasi jagung manis dilakukan dengan merendam jagung dengan air steril dalam wadah tertutup pada suhu kamar (± 28 °C) hingga 72 jam (Aini et al., 2009). Selanjutnya dilakukan isolasi dari hasil fermentasi untuk mengetahui adanya bakteri asam laktat yang terdapat dalam jagung manis. Isolat tunggal murni diidentifikasi untuk mengetahui karakteristik dari isolat bakteri hasil isolasi. Kemudian dilakukan metode uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, dengan mengukur diameter daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada proses fermentasi terjadi perubahan fisik seperti warna, aroma, dan penampakan. Warna fermentasi jagung manis kuning keruh, aroma jagung dan sedikit asam dan membentuk 3 lapisan pada fermentasi. Proses fermentasi didefinisikan sebagai penguraian pati oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada suatu substrat, sehingga fermentasi pati jagung merupakan penguraian pati jagung yang dilakukan oleh enzim amilase dan amiloglukooksidase yang dihasilkan oleh mikroba indigenus. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa bakteri dominan yang terlibat selama proses fermentasi spontan jagung adalah golongan bakteri asam laktat yang merupakan jenis bakteri yang bersifat menguntungkan dan selalu terlibat dalam proses fermentasi secara spontan karena bersifat indigenus. Bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen dan pembusuk dikarenakan bakteri ini mampu menghasilkan beberapa senyawa

antibakteri seperti bakteriosin, hidrogen peroksida, asam lemak, reuterin, diasetil dan asam laktat (Sukainah et al., 2017)

3.1 Isolasi, Morfologi dan Uji Biokimia BAL

Hasil isolasi dari fermentasi jagung manis diperoleh 3 isolat yaitu FJM1, FJM2, dan FJM3. Setiap isolat menghasilkan zona bening pada media MRS Agar tersuplementasi CaCO₃ (Tabel 3). Zona bening yang terdapat disekitar koloni tersebut terbentuk akibat adanya penetralan asam yang dihasilkan bakteri asam laktat oleh CaCO₃ (Rambitan et al., 2018). Dari isolat yang menghasilkan zona bening didapatkan hasil pengamatan morfologi koloni dan sel secara makroskopik dan mikroskopik, yang meliputi warna, bentuk koloni, elevasi, dan tepian (Manalu, 2017) yang dapat dilihat pada tabel 1. menunjukkan bahwa ke 3 isolat memiliki morfologi berbeda yaitu FJM1 dan FJM2 memiliki bentuk bulat, berwarna putih, elevasi cembung dengan tepian tidak beraturan. Sedangkan FJM3 memiliki bentuk bulat berwarna putih elevasi datar dengan tepian yang beraturan.

Tabel 1. Morfologi Koloni dan Sel serta Uji Biokimia

Morfologi	Isolat		
	FJM 1	FJM 2	FJM 3
	Koloni		
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat
Warna	Putih	Putih	Putih
Elevasi	Cembung	Cembung	Datar
Tepian	Tidak Beraturan	Tidak Beraturan	Beraturan
	Sel		
Bentuk	Batang	Batang	Batang
Pewarnaan Gram	Positif	Positif	Positif
Pewarnaan Endospora	Negatif	Negatif	Negatif
	Uji Biokimia		
Katalase	-	-	-
Sitrat	-	-	-
Indol	-	-	-
Motilitas	-	-	-
TSIA	+	+	+
VP	-	-	-

Keterangan:

- + : Menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri
- : Menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri ke dalam bakteri Gram Positif dan Gram negatif, berdasarkan tabel 1 di atas menunjukkan bahwa ketiga isolat merupakan Gram positif. Ketiga isolat memiliki karakteristik bentuk yang sama yaitu basil atau batang, dan tidak membentuk spora. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri yang diperoleh menunjukkan ciri bakteri asam laktat.

Setelah pewarnaan Gram dilakukan uji biokimia pada tiga isolat bakteri, yang pertama dilakukan uji katalase untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen (Manalu *et al.*, 2020). Hasil uji katalase menunjukkan hasil yang negatif pada ketiga isolat, yang dicirikan tidak adanya gelumbang udara yang terbentuk ketika isolat ditetesi dengan larutan H₂O₂. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Amaliah *et al.*, 2018; Manalu *et al.*, 2020) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif.

Uji sitrat yang dilakukan pada isolat bakteri FJM1, FJM2, dan FJM3 menunjukkan hasil negatif (-) karena tidak terjadi perubahan warna pada media uji sitrat dari hijau menjadi biru. Menurut (Hadieotomo, 1993) media sitrat merupakan salah satu media yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang digunakan.

Adapun hasil dari uji indol yang dilakukan pada isolat bakteri FJM1, FJM2, dan FJM3 juga menunjukkan hasil negatif (-) yang berarti bahwa tidak ada isolat bakteri yang membentuk indol. Ketiga isolat tidak memiliki aktivitas untuk memproduksi enzim triptofanase dari bakteri. Hal ini terlihat pada uji indol yang ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan cincin merah pada permukaan media biakan.

Hasil dari uji motilitas menunjukkan bahwa isolat bakteri FJM1, FJM2 dan FJM3 bersifat negatif (non motil) yang ditandai dengan tidak menyebarnya pertumbuhan bakteri. Hal ini berarti isolat bakteri asam laktat tersebut tidak memiliki flagellum yang merupakan alat gerak bakteri dalam media. Hal ini juga didukung oleh pendapat (Pelczar Jr, Michael J, Chan, 2009) bahwa tidak semua bakteri memiliki flagellum.

Hasil uji TSIA yang dilakukan pada isolat bakteri FJM1, FJM2, dan FJM3 menunjukkan bahwa isolat mampu memfermentasikan laktosa dan sukrosa yang ditandai dengan media bagian slant (miring) dan butt (dasar) berwarna kuning. Warna kuning pada media menunjukkan reaksi asam sedangkan warna merah pada media menunjukkan reaksi basa. Berdasarkan pengamatan ini, tidak terdapat isolat yang memiliki enzim desulfurase yaitu enzim yang dapat memecah sistein dan menghasilkan gas yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna hitam pada dasar media. Hasil dari fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa akan menghasilkan senyawa asam.

Hasil uji VP (Voges Proskauer) dari isolat bakteri FJM1, FJM2, dan FJM3 menunjukkan hasil negatif (-) dimana media tidak berubah warna setelah ditetesi alfanaftol dan KOH 40%. Warna merah menunjukkan hasil positif dan warna kuning- coklat menunjukkan hasil negatif. Uji ini tergantung pada pencernaan glukosa menjadi acetylmethylcarbinol. Jika glukosa pecah maka akan bereaksi dengan alfanaftol dan kalium hidroksida untuk merubah

menjadi warna merah. Alfanaftol dan kalium hidroksida adalah bahan kimia yang mendeteksi acetonin (Chatim & Surahman, 2002).

Berdasarkan hasil dari uji morfologi, sifat fisiologis dan uji biokimia pada isolat bakteri fermentasi jagung manis dengan mengacu pada buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology secara keseluruhan menunjukkan ke 3 isolat merupakan kelompok bakteri dari keluarga Lactobacilaceae genus Lactobacillus.

3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Dalam penelitian ini ketiga isolat bakteri asam laktat diketahui memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang masing-masing mewakili bakteri Gram positif dan negatif. Hasil dari uji tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Uji Antibakteri pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Ulangan	Ciprofloxacin	FJM 1	FJM 2	FJM3
<i>Escherichia coli</i>				
1	16,95 mm	13,40 mm	12,05 mm	10,40 mm
2	16,25 mm	14,95 mm	13,75 mm	11,95 mm
Rata-rata	16,60 mm	14,18 mm	12,38 mm	11,18 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>				
1	29,20 mm	13,75 mm	11,15 mm	10,15 mm
2	24,20 mm	12,35 mm	11,10 mm	10,55 mm
Rata-rata	26,70 mm	13,05 mm	11,12 mm	10,35 mm

Pada Tabel 2 terlihat ketiga isolat bakteri memiliki sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil yang diperoleh dari isolat FJM1 memiliki respon hambat tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 14,18 mm yang termasuk kategori kuat. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan penghambatan dengan diameter zona hambat 13,05 mm yang juga termasuk kategori kuat. Kontrol positif ciprofloxacin menunjukkan aktivitas hambat paling besar terhadap bakteri uji dibandingkan dengan isolat bakteri asam laktat yaitu dengan diameter hambat 26,7 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 16,6 mm terhadap *Escherichia coli*. Penghambatan isolat bakteri asam laktat pada fermentasi jagung manis (*Zea mays sacarata*) terhadap *Escherichia coli* lebih tinggi dari bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini dikarenakan *Escherichia coli* sensitif terhadap senyawa antibakteri yang dihasilkan dari isolat bakteri asam laktat pada fermentasi jagung manis. Menurut (Alakomi et al., 2006)

penghambatan dapat terjadi karena senyawa antimikroba yang dihasilkan dapat menembus membran terluar dari bakteri gram negatif yang bertindak sebagai pelindung dengan adanya lipopolisakarida yang menyebabkan resistensi sel dari berbagai macam zat, namun membran terluar dari bakteri gram negatif ini masih mungkin dapat ditembus oleh senyawa lain yang disebut permeabilizer. Senyawa ini dapat menghancurkan lapisan lipopolisakarida dan meningkatkan permeabilitas membrane terluar bakteri gram negatif. Salah satu zat yang dapat menembus periplasma membrane terluar dari bakteri gram negatif adalah asam laktat.

4. KESIMPULAN

Isolasi BAL dari fermentasi jagung manis diperoleh 3 isolat yaitu FJM1, FJM2 dan FJM3. Karakteristik dari ketiga isolat menunjukkan bakteri berbentuk basil. Hasil dari uji biokimia dinyatakan negatif terhadap uji katalase, sitrat, indol, motilitas, TSIA, serta VP. Ketiga isolat bakteri memiliki aktivitas antibakteri dimana Isolat yang paling kuat sebagai antibakteri adalah FJM1 dengan diameter daya hambat sebesar 14,18 mm terhadap *Escherichia coli* dan 13,05 mm terhadap *Staphylococcus aureus* yang tergolong kategori kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat atas dukungan biaya pada skim Penelitian Hibah Internal TA 2019-2020, juga ucapan terima kasih kepada Dr.apr. Refdanita, M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional dalam koordinasi tentang skim Penelitian.

REFERENSI

- Aini, N., Hariyadi, P., Muchtadi, T. R., & Andarwulan, N. (2009). Hubungan sifat kimia dan rheologi tepung jagung putih dengan fermentasi spontan butiran jagung. In *Forum Pas-casarjana*.
- Alakomi, H. L., Paananen, A., Suihko, M. L., Helander, I. M., & Saarela, M. (2006). Weakening effect of cell permeabilizers on gram-negative bacteria causing biodeterioration. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7). <https://doi.org/10.1128/AEM.00142-06>
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1). <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i1.320>

- Getahun, A., Tesfaye, A., & Muleta, D. (2016). Investigation of the Potential Benefits and Risks of Probiotics and Prebiotics and their Synergy in Fermented Foods. *Singapore Journal of Chemical Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.3923/sjchbio.2017.1.16>
- Hidayat, H. (2015). Identifikasi Morfologi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dari Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora Sp.*). *Jurnal Eksakta*, 15(1–2). <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol15.iss1-2.art8>
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Buah Mangga (*Mangifera indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2). <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.29>
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Juodeikiene, G., Bartkiene, E., Viskelis, P., Urbonaviciene, D., Eidukonyte, D., & Bobinas, C. (2012). Fermentation Processes Using Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocins for Preservation and Improving Functional Properties of Food Products. In *Advances in Applied Biotechnology*. <https://doi.org/10.5772/30692>
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & von Wright, A. (2011). Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects, fourth edition. In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Fourth Edition*. <https://doi.org/10.3920/bm2012.x003>
- Manalu, R. T. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Asal Indonesia. *Sainstech Farma*, 10(2), 23–28.
- Manalu, R. T., Bahri, S., Melisa, M., & Sarah, S. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. *Sainstech Farma*, 13(1), 55–59.
- Nudyanto, A., & Zubaidah, E. (2015). Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Dari Kimchi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2).
- Pelczar Jr, Michael J, Chan, E. C. S. (2009). Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. In *Journal of Minimally Invasive Gynecology*.
- Rahmawati, Hariyadi-Dewanti, R., Hariyadi, P., Fardiaz, D., & Richana, N. (2013). Isolation And Identification Of Microorganisms During Spontaneous Fermentation Of Maize [Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme pada Fermentasi Spontan Jagung]. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 24(1). <https://doi.org/10.6066/6953>

- Rambitan, G., Pelealu, J. J., & Tallei, T. E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat hasil fermentasi kol merah (*Brassica oleracea* L.) sebagai probiotik potensial (Isolation and identification lactic acid bacteria from red cabbage (*Brassica oleracea* L.) fermentation as potential probiotic). *Jurnal Bios Logos*, 8(2), 33. <https://doi.org/10.35799/jbl.8.2.2018.21447>
- Ray, B., & Bhunia, A. (2013). Fundamental Food Microbiology. In *Fundamental Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1201/b16078>
- Sukainah, A., Johannes, E., & Putra, R. P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenus pada Tepung Jagung Bisi 16 selama Proses Fermentasi Spontan. *Prosiding Nasional PATPI 2017*, 1176.