

Microbiological Quality Analysis and Identification of Lactic Acid Bacteria from the Product of Fermentation of Mackerel

Sukmawati Sukmawati ^{1*}, Sipriyadi ²

¹ Pengolahan Hasil Perikanan (Fakultas Perikanan, Universitas Muhammadiyah Sorong, Sorong, Indonesia).

² Biologi (Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Bengkulu, Indonesia).

*Correspondence author: sukmawati.unamin@um-sorong.ac.id

ABSTRACT. Mackerel is a type of fish that has high nutritional value, this fish is a source of protein and is in great demand by many people. Mackerel can be processed into various types of processed food, one of which is through the fermentation process. The purpose of this study was to determine the microbiological quality, to determine the characteristics and the number of lactic acid bacteria, and to identify the species of lactic acid bacteria found in the fermented mackerel product. The results showed that the microbiological test of mackerel fermented products had the highest total plate number (ALT) in the Fit.L sample, namely 4.2×10^5 cfu/g, followed by the Fit.C sample with a value of 2.4×10^4 cfu/g, and the lowest value was in the Fit.A sample 4.3×10^3 cfu/g. The total plate number (ALT) in each test sample stated that the number did not exceed the maximum limit of the Indonesian national standard. Microbiological test results through the *E.coli* estimator test of the three samples showed a value of <3 APM/g, then the reinforcement test results were declared not to contain *E.coli* bacteria. The number of lactic acid bacteria (LAB) present in the mackerel fermented product sample showed the highest value in the Fit.L sample, namely 1.8×10^4 cfu/g, then in the Fit.C sample with a value of 2.6×10^3 cfu/g, while the lowest was in the Fit.A sample whose value is 3.6×10^2 cfu/g. The morphological characteristics of the LAB colonies from the three samples showed the same characteristics, namely round shape, smooth edges and convex elevation. The results of the identification of the two isolates from the two samples stated that the Fit.A isolate was identified as *Staphylococcus condimentii* strain DSM 11674 and the Fit.C isolate was identified as *Lactobacillus reuteri* strain 1444.

Keywords: Microbiological Quality, Identification, Lactic Acid Bacteria, Fermentation, Mackerel

ABSTRAK. Ikan tenggiri merupakan salah satu jenis ikan yang memiliki nilai gizi yang tinggi, Ikan tenggiri dapat diolah menjadi berbagai jenis makanan olahan, seperti produk fermentasi. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui mutu mikrobiologi produk fermentasi ikan tenggiri, untuk mengetahui karakteristik dan jumlah bakteri asam laktat pada produk fermentasi ikan tenggiri, dan untuk mengidentifikasi jenis spesies bakteri asam laktat yang terdapat pada produk hasil fermentasi ikan tenggiri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji mikrobiologi produk fermentasi ikan tenggiri memiliki jumlah angka lempeng total (ALT) tertinggi pada sampel Fit.L yaitu 4.2×10^5 cfu/g, disusul sampel Fit.C dengan nilai 2.4×10^4 cfu/g, dan nilai terendah pada sampel Fit.A 4.3×10^3 cfu/g. Jumlah angka lempeng total (ALT) di setiap sampel uji dinyatakan bahwa jumlah tersebut tidak melewati batas maksimum standar nasional Indonesia. Hasil uji mikrobiologi melalui uji penduga *E.coli* dari ketiga sampel

menunjukkan nilai <3 APM/g, kemudian hasil uji penguat dinyatakan tidak mengandung bakteri *E.coli* sehingga dapat dinyatakan bahwa produk fermentasi ikan tenggiri bebas dari cemaran *E. coli*. Jumlah bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada sampel produk fermentasi ikan tenggiri menunjukkan nilai tertinggi pada sampel Fit.L yakni 1.8×10^4 cfu/g, selanjutnya pada sampel Fit.C dengan nilai 2.6×10^3 cfu/g, sementara yang terendah pada sampel Fit.A yang nilainya 3.6×10^2 cfu/g. Karakteristik morfologi koloni BAL yang berasal dari ketiga sampel tersebut menunjukkan karakteristik yang sama, yakni bentuk bundar, tepian licin dan elevasi cembung. Hasil identifikasi kedua isolat yang berasal dari dua sampel tersebut dinyatakan bahwa isolate Fit.A teridentifikasi sebagai *Staphylococcus condimentii* strain DSM 11674 dan isolate Fit.C teridentifikasi sebagai *Lactobacillus reuteri* strain 1444.

Kata kunci: Uji Mikrobiologi, Identifikasi, Bakteri Asam Laktat, Fermentasi, Ikan Tenggiri



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. ©2024 by author.

1. PENDAHULUAN

Salah-satu produk pangan fungsional yang turut berkembang adalah makanan dan minuman fermentasi. Makanan dan minuman fermentasi dapat didefinisikan sebagai makanan yang dapat digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan mikroorganisme yang menguntungkan, enzim dan proses metabolisme bakteri tersebut mampu mendegradasi substrat yang menghasilkan rasa, aroma, dan tekstur yang menarik bagi konsumen manusia (Taylor, *et. al.*, 2015). Salah-satu pangan hewani yang dapat difermentasi adalah ikan tenggiri.

Ikan tenggiri merupakan salah satu jenis ikan yang memiliki nilai gizi yang tinggi, ikan tersebut sebagai sumber protein dan diminati oleh banyak masyarakat. Selain itu, ikan tenggiri juga dapat diolah menjadi berbagai jenis makanan olahan, salah satunya melalui proses fermentasi. Fermentasi ikan tenggiri dapat menghasilkan berbagai senyawa yang berkontribusi terhadap aroma, rasa, dan tekstur makanan olahan yang dihasilkan. Namun, selama proses fermentasi, mikroorganisme non patogen dan patogen dapat tumbuh dan berkembang biak dalam bahan pangan.

Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis mutu mikrobiologi pada hasil fermentasi ikan tenggiri untuk menjamin keamanan dan kualitas produk. Salah satu jenis mikroorganisme yang bermanfaat dapat tumbuh selama fermentasi adalah bakteri asam laktat, yang memiliki peran penting dalam memperbaiki kualitas makanan olahan dan memberikan efek positif pada kesehatan manusia.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utamanya dengan memanfaatkan karbohidrat (Sukmawati & Sipriyadi, *et. al.*, 2022). BAL termasuk bakteri yang menguntungkan karena termasuk probiotik potensial dan mampu digunakan sebagai starter dalam proses fermentasi makanan.

BAL adalah bakteri yang menguntungkan karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan jamur *Aspergillus fumigatus* (Dowet *al.*, 2010;

Lahtinen *et al.*, 2012). Bakteri asam laktat ditemukan dalam makanan fermentasi (Lahtinen *et al.*, 2012). Fermentasi bahan pangan adalah salah-satu teknik yang digunakan untuk mengawetkan suatu makanan (Fleck *et al.*, 2012).

Bakteri asam laktat dapat memberikan manfaat baik bagi kesehatan karena termasuk probiotik potensial. Manfaat mengonsumsi probiotik antara lain, mampu meningkatkan kekebalan tubuh, menghambat bakteri patogen, menstabilkan kondisi mikrobiota di usus dan mampu menurunkan serum kolesterol, (Kaur *et al.*, 2014; Lahtinen *et al.*, 2012)

BAL telah banyak diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri fenotipnya, namun identifikasi jenis ini kurang akurat dan membutuhkan waktu yang relatif lama (Khalid, 2011). Sehingga, identifikasi BAL dapat dilakukan secara molekuler, salah satunya menggunakan gen 16S rRNA (Khalid, 2011). Gen 16S rRNA adalah gen yang terletak pada ribosom sub unit kecil dan memiliki fragmen sekitar 1500 pasang basa yang mampu digunakan untuk identifikasi bakteri (Das *et al.*, 2014; Senthilraj *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini, dilakukan analisis mutu mikrobiologi pada hasil fermentasi ikan tenggiri dan identifikasi bakteri asam laktat yang tumbuh selama fermentasi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis bakteri asam laktat yang dominan dalam fermentasi ikan tenggiri dan memahami peranannya dalam mempengaruhi kualitas makanan olahan yang dihasilkan. Dengan demikian, hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang berguna bagi pengembangan produk makanan olahan yang lebih aman dan berkualitas. Adapun tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui mutu mikrobiologi produk fermentasi ikan tenggiri, untuk mengetahui karakteristik dan jumlah bakteri asam laktat pada produk fermentasi ikan tenggiri, dan untuk mengidentifikasi jenis spesies bakteri asam laktat yang terdapat pada produk hasil fermentasi ikan tenggiri.

2. METODE

2.1 Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yaitu penggambaran mengenai jumlah angka lempeng total bakteri pada produk fermentasi ikan tenggiri, penggambaran ada atau tidak bakteri *E. coli* pada produk fermentasi ikan tenggiri, penggambaran jumlah koloni bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada produk fermentasi ikan tenggiri dan hasil identifikasi bakteri tingkat spesies yang terdapat pada produk fermentasi ikan tenggiri. Pada penelitian ini digunakan tiga sampel produk ikan tenggiri, kemudian untuk identifikasi bakteri tingkat molekuler hanya diidentifikasi sebanyak dua isolate potensial.

2.2 Prsodur Kerja

2.2.1 Analisis Angka lempeng total bakteri

Produk ikan tenggiri fermentasi masing-masing diambil 1 gram kemudian diencerkan pada larutan NaCl fisiologis dengan faktor pengenceran 10^{-1} - 10^{-3} , kemudian ditumbuhkan pada media nutrient agar (NA) dengan menggunakan teknik metode tuang selanjutnya, dilakukan inkubasi selama 24 jam. Kemudian, dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni pada cawan sampel.

2.2.2 Uji *E.coli*

Uji penduga, terlebih dahulu dilakukan dengan membuat media lactose broth (LB) sebanyak 26 gram ke dalam 1000 mL aquades, kemudian di sterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media LB di masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham, untuk tiap sampel membutuhkan tiga tabung rekasi dan tiga tabung durham. Pada penelitian ini menggunakan teknik 3 seri tabung. Selanjutnya, suspensi bakteri sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung yang berisi media LB. Kemudian, sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya diamati dan dihitung gelembung yang terdapat dalam tabung durham, jika ada yang terbentuk gelembung gas dalam tabung durham maka di duga terdapat bakteri *E. coli*. gelembung gas dihitung yang terbentuk pada setiap tabung durham. Selanjutnya untuk penentuan jumlah *E.coli* (APM/g) dalam setiap tabung mengacu pada lampiran tabel standar APM seri tiga tabung.

Uji penguat, pembuatan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) sebanyak 37.5 gram dalam 1000 mL, kemudian masing-masing sampel yang terdapat gelembung pada uji pendugaditumbuhkan pada media EMBA dengan cara metode tuang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Tahap pengamatan dilakukan setelah proses inkubasi, jika terbentuk koloni berwarna hijau metalik pada koloni atau sekitar koloni bakteri yang tumbuh maka positif mengandung *E. coli* sedangkan jika terbentuk titik hitam ditengah koloni maka dinyatakan negatif bakteri *E. coli*.

2.3 Isolasi BAL

Produk ikan tenggiri fermentasi masing-masing diambil sebanyak 1 gram kemudian dilakukan pengenceran dengan penambahan larutan NaCl fisiologis 0,9 % steril. Selanjutnya, sampel tersebut dimasukkan ke dalam aquadest steril untuk diencerkan dengan perbandingan 1:9 ml. Faktor pengenceran 10^{-1} sampai factor pengenceran 10^{-3} kemudian sampel hasil pengenceran diambil 1 mL dan ditumbuhkan pada cawan yang berisi media MRS dengan menggunakan teknik metode tuang, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh pada media tumbuh, diamati karakteristik morfologi koloninya meliputi bentuk koloni, warna, tepian, dan permukaan koloni. Selanjutnya dihitung jumlah koloninya untuk tiap cawan sampel.

2.4 Identifikasi bakteri tingkat molekuler

Isolasi DNA genom isolat bakteri dimodifikasi dari Sambrook dan Russell, 2001 mengacu pada metode (Sukmawati, *et. al.*, 2022). Selanjutnya amplifikasi gen 16 sRNA isolat bakteri, kondisi PCR yang digunakan yaitu pre-denaturasi (94 °C, 4 menit), denaturasi (94 °C, 45 detik), *annealing* (55 °C, 1 menit), *elongation* (72 °C, 1 menit 10 detik), dan *post PCR* (72 °C, 7 menit) dengan jumlah siklus sebanyak 30 siklus. Kemudian, sekuensing dan analisis data yaitu data mentah hasil sekuensing selanjutnya di *trimming* dan di *assembling* menggunakan program ChromasPro version 1.5. Selanjutnya, data dianalisis dengan mensejajarkan sekuen tersebut dengan menggunakan program MEGA 5.0 (Tamura *et al.* 2011) serta dilakukan konstruksi pohon flogenetik untuk menunjukkan tingkat kekerabatan isolat Xyl_22 dengan Aktinomiset dan mikrob nonkatinomiset lain menggunakan metode Neighbor Joining Tree dengan *bootstrap* yang digunakan adalah 1000 ulangan (Felsenstein 1985; Sukmawati & Rosalina, *et. al.*, 2022).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

Hasil uji mikrobiologi yang meliputi angka lempeng total (ALT) bakteri dan hasil uji *E. coli* pada produk fermentasi ikan tenggiri (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah angka lempeng total (ALT) dan uji *E. coli* pada produk fermentasi ikan tenggiri

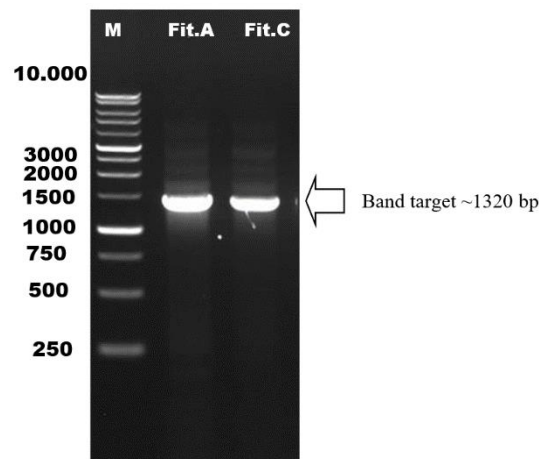
| Jenis Sampel | Angka lempeng total (cfu/g) | SNI 2009 | Uji <i>E. coli</i> | | |
|--------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|----------|
| | | | Penduga (APM/g) | Penguat atau Konfirmasi (APM/g) | SNI 2009 |
| Fit.A | 4.3x10 ³ | 5 x10 ⁵ | <3 | 0 | <3 |
| Fit.C | 2.4x10 ⁴ | 5 x10 ⁵ | <3 | 0 | <3 |
| Fit.L | 4.2x10 ⁵ | 5 x10 ⁵ | <3 | 0 | <3 |

Produk fermentasi ikan tenggiri diduga terdapat bakteri asam laktat (BAL), dari ketiga sampel tersebut memiliki jumlah koloni BAL yang bervariasi (Tabel 2).

Tabel 2. Jumlah koloni bakteri asam laktat (BAL) pada produk hasil fermentasi ikan tenggiri serta karakteristik morfologinya

| Sampel | Jumlah koloni BAL (cfu/g) Fp.10 ⁻³ | Karakteristik morfologi | | |
|--------|--|-------------------------|--------|---------|
| | | Bentuk | Tepian | Elevasi |
| Fit.A | 3.6x10 ² | Bundar | Licin | Cembung |
| Fit.C | 2.6x10 ³ | Bundar | Licin | Cembung |
| Fit.L | 1.8x10 ⁴ | Bundar | Licin | Cembung |

Amplifikasi Genom sampel bakteri yang telah diisolasi dari produk fermentasi ikan tenggiri yang menggunakan metode PCR (Gambar 1). Hasil pensejajaran sekuen gen 16 SRNA isolat Fit.A dan Fit.C (Tabel 3; Tabel 4), dan hasil konstruksi pohon filogenetik (Gambar 2).



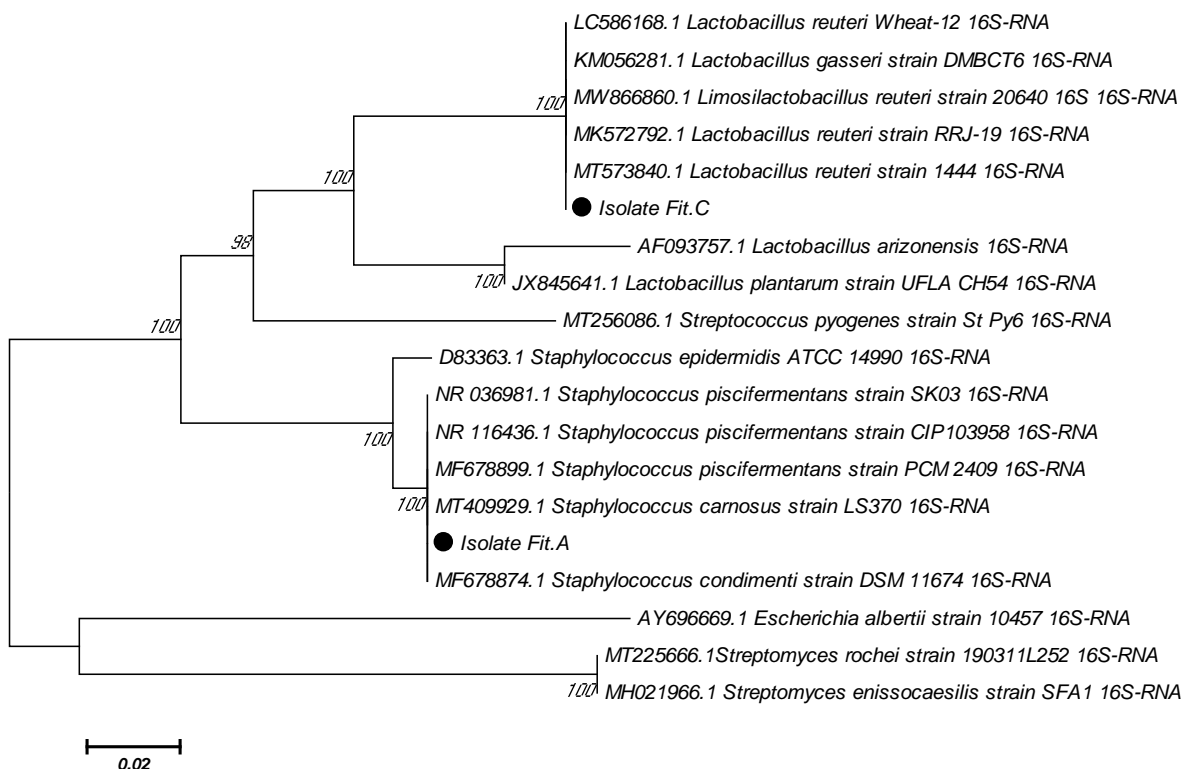
Gambar 1. Amplifikasi PCR terhadap gen 16 sRNA dengan primer 63f dan primer 1387r; M = marker 1 Kb ladder ; lane 2-3 = produk PCR isolat Fit.A dan Isolat Fit.C.

Tabel 3. Hasil pensejajaran sekuen gen 16 SRNA isolat Fit.A terhadap data yang tersedia di NCBI (BLASTX)

| Kode Isolat | Nomor kases | Deskripsi | Identity | E value |
|------------------------|-----------------------------|--|----------|---------|
| Kultur Isolat Fit.A | MF678874.1 | <i>Staphylococcus condimentii</i> strain DSM 11674 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, complete sequence; and 23S ribosomal RNA gene, partial sequence | 99.58 % | 0.00 |
| | MT409929.1 | <i>Staphylococcus carnosus</i> strain LS370 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 99.41 % | 0.00 |
| | MF678899.1 | <i>Staphylococcus piscifermentans</i> strain PCM 2409 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, complete sequence; and 23S ribosomal RNA gene, partial sequence | 99.41 % | 0.00 |
| | NR_116436.1 | <i>Staphylococcus piscifermentans</i> strain CIP103958 16S ribosomal RNA, partial sequence | 98.41% | 0.00 |

Tabel 4. Hasil pensejajaran sekuen gen 16 SRNA isolat Fit.C1 terhadap data yang tersedia di NCBI (BLASTX)

| Kode Isolat | Nomor kases | Deskripsi | Identity | E value |
|---------------------|-------------|--|----------|---------|
| Kultur Isolat Fit.C | MT573840.1 | <i>Lactobacillus reuteri</i> strain 1444 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 100.0 % | 0.00 |
| | MK572792.1 | <i>Lactobacillus reuteri</i> strain RRJ-19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 100.0 % | 0.00 |
| | MW866860.1 | <i>Limosilactobacillus reuteri</i> strain 20640 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 100.0 % | 0.00 |
| | KM056281.1 | <i>Lactobacillus gasseri</i> strain DMBCT6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 99.92 % | 0.00 |



Gambar 2. Pohon Filogenetik yang menggambarkan kedekatan isolat Fit.A dan Fit.C terhadap bakteri lain dalam satu clade maupun terhadap clade lain (outer group). Konstruksi berdasarkan metode Neighbor Joining Tree dengan nilai bootstap 1000x ulangan.

3.2 Pembahasan

Hasil uji mikrobiologi produk fermentasi ikan tenggiri memiliki jumlah angka lempeng total (ALT) tertinggi pada sampel Fit.L yaitu 4.2×10^5 cfu/g, disusul sampel Fit.C dengan nilai 2.4×10^4 cfu/g, dan nilai terendah pada sampel Fit.A 4.3×10^3 cfu/g. Jumlah angka lempeng total (ALT) di setiap sampel uji dinyatakan bahwa jumlah tersebut tidak melewati batas maksimum standar nasional Indonesia. Menurut BPOM (2019), ikan dan produk perikanan awet, meliputi ikan dan produk perikanan yang dikalengkan atau difermentasi, termasuk moluska, krustase dan ekinodermata jumlah angka lempeng total (ALT) mikroba maksimal 10^5 koloni/g.

Hasil uji mikrobiologi mengenai uji penduga *E.coli* dari ketiga sampel menunjukkan nilai <3 APM/g, kemudian hasil uji penguat dinyatakan tidak mengandung bakteri *E.coli* (Tabel 1). Hasil uji tersebut dapat dinyatakan bahwa produk fermentasi ikan tenggiri bebas dari cemaran *E. coli*, artinya produk tersebut aman dikonsumsi. Standarisasi pangan nasional Indonesia ditetapkan bahwa Ikan dan produk perikanan termasuk moluska, crustaceae dan ekinodermata yang difermentasi dengan atau tanpa garam jumlah bakteri *Escherichia coli* maksimal <3 APM/g BSN (2009). Selain deteksi ada atau tidaknya cemaran mikroba pada produk fermentasi ikan tenggiri, diketahui bahwa pangan fermentasi dapat ditemukan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memiliki peranan penting dalam meningkatkan sistem imunitas.

Jumlah bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada sampel produk fermentasi ikan tenggiri menunjukkan nilai tertinggi pada sampel Fit.L yakni 1.8×10^4 cfu/g, selanjutnya pada sampel Fit.C dengan nilai 2.6×10^3 cfu/g, sementara yang terendah pada sampel Fit.A yang nilainya 3.6×10^2 cfu/g. karakteristik morfologi koloni BAL yang berasal dari ketiga sampel tersebut menunjukkan karakteristik yang sama, yakni bentuk bundar, tepian licin dan elevasi cembung (Tabel 2). Dugaan bakteri asam laktat tersebut karena kemampuannya yang dapat tumbuh pada media selektif De Man Rogosa and Sharpe (MRS). MRS merupakan media standard untuk kultivasi bakteri asam laktat (BAL) (Liu, *et. al.*, 2011; Subagiyo, *et. al.*, 2016) dan merupakan media yang paling sesuai untuk media pertumbuhan dan produksi bakteriosin (Arokiyama & Sivakumar, 2011; Meng, *et. al.*, 2012).

Bakteri asam laktat merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat dapat menguraikan zat makromolekul dalam makanan, termasuk degradasi polisakarida yang tidak dapat dicerna dan transformasi zat rasa yang tidak diinginkan. Bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan produk asam lemak rantai pendek, amina, bakteriosin, vitamin, dan eksopolisakarida selama metabolisme. Berdasarkan karakteristik metabolisme tersebut bakteri asam laktat telah menunjukkan berbagai aplikasi yang diperluas dalam industri makanan. Di satu sisi, digunakan untuk meningkatkan cita rasa makanan fermentasi, menambah nutrisi makanan,

mengurangi zat berbahaya, meningkatkan umur simpan, dan sebagainya. Di sisi lain, mereka dapat digunakan sebagai probiotik untuk meningkatkan kesehatan tubuh (Wang, *et. al.*, 2021; Sukmawati & Ratna, *et. al.*, 2022).

Kandidat bakteri asam laktat lebih lanjut diidentifikasi secara molekuler. Hasil Amplifikasi Genom sampel bakteri yang telah diisolasi dari produk fermentasi ikan tenggiri yang menggunakan metode PCR dengan primer 63f dan 1387r menghasilkan fragmen DNA yang berukuran sekitar 1300 pb (Gambar 1). Hasil pensejajaran sekuen gen 16 SRNA isolat Fit.A terhadap data yang tersedia di NCBI (BLASTX) (Tabel 3; Tabel 4), dan hasil Konstruksi Pohon Filogenetik (gambar 2). Kedua isolat yang berasal dari dua sampel tersebut dinyatakan bahwa isolate Fit.A teridentifikasi sebagai *Staphylococcus condimentii* strain DSM 11674 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA *intergenic spacer, complete sequence; and 23S ribosomal RNA gene, partial sequence* dengan *similarity* sebesar 99.58%, dan isolate Fit.C teridentifikasi sebagai *Lactobacillus reuteri* strain 1444 16S ribosomal RNA gene, *partial sequence* dengan *similarity* sebesar 100.00%.

Staphylococcus condimentii termasuk *Staphylococcus* koagulase negative (Pickering, *et. al.*, 2021). *Staphylococcus* koagulase negatif sering menyebabkan infeksi nosokomial terutama dalam bentuk bakteremia pada penderita neonatus, penderita *immunocompromised*, dan penderita dengan *indwelling prosthetic devices* (Dzen, *et. al.*, 2005).

Lactobacillus reuteri AN417 termasuk strain bakteri probiotik mampu menghambat bakteri patogen rongga mulut. Supernatan kultur *L. reuteri* AN417 bebas sel (LRS) mampu menghambat bakteri patogen oral; *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Streptococcus mutans*. *P. gingivalis* dan *F. nucleatum* yang menyebabkan penyakit periodontal, dan *S. mutans* menyebabkan karies gigi (Yang, *et. al.*, 2021).

Lactobacillus reuteri merupakan simbiosis usus yang terdapat pada mamalia. *L. reuteri* mampu memperbaiki gangguan usus, melindungi kesehatan usus, menekan peradangan dan meningkatkan respon imun, mengatur mikrobiota usus dan proses metabolisme, dan menghambat stres oksidatif (Yu, *et. al.*, 2023).

4. KESIMPULAN

Simpulan dari hasil uji mikrobiologi produk fermentasi ikan tenggiri memiliki jumlah angka lempeng total (ALT) tertinggi pada sampel Fit.L yaitu 4.2×10^5 cfu/g, sampel Fit.C dengan nilai 2.4×10^4 cfu/g, dan nilai terendah pada sampel Fit.A 4.3×10^3 cfu/g sehingga dapat dinyatakan bahwa ALT tersebut tidak melewati batas maksimum standar nasional Indonesia. Uji penduga *E.coli* dari ketiga sampel menunjukkan nilai <3 APM/g, kemudian hasil uji penguat dinyatakan

tidak mengandung bakteri *E.coli* sehingga dapat dinyatakan bahwa produk fermentasi ikan tenggiri layak untuk dikonsumsi.

Bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada sampel produk fermentasi ikan tenggiri menunjukkan nilai tertinggi pada sampel Fit.L yakni 1.8×10^4 cfu/g, sampel Fit.C dengan nilai 2.6×10^3 cfu/g, dan sampel Fit.A yang nilainya 3.6×10^2 cfu/g. Karakteristik morfologi koloni BAL yang berasal dari ketiga sampel tersebut ialah bentuk bundar, tepian licin dan elevasi cembung. Hasil identifikasi BAL dari isolate Fit.A teridentifikasi sebagai *Staphylococcus condimenti* strain DSM 11674 dan isolate Fit.C teridentifikasi sebagai *Lactobacillus reuteri* strain 1444.

REFERENSI

- Arokiyarny, A., & Sivakumaar, P. K. (2011). The use of response surface methodology in optimization process for bacteriocin production. *International Journal of biomedical research*, 2(11), 568-574.
- BPOM. (2019). Batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. Hal. 35
- BSN. (2009). Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. BSN. SNI 7388-2009.
- Das, S., Dash, H. R., Mangwani, N., Chakraborty, J., Kumari, S. (2014). Understanding Molecular Identification and Polyphasic Taxonomic Approaches for Genetic Relatedness and Phylogenetic Relationships of Microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*. 103: 84.
- Dow. A., C. Alvarado., M. Brashears. (2010). Reduction of inoculated Salmonella cocktail in ground turkey and turkey breasts using Lactobacillus-based intervention. *Poultry Science*. 90: 876
- Dzen, S. M., Santoso, S., Roekistiningsih, R., & Santosaningsih, D. (2005). Perbedaan Pola Resistensi *Staphylococcus* Koagulase Negatifisolat Darah Terhadap Antibiotika Di Rsu Dr Saiful Anwar Malang Tahun 2000-2001 Dengan 2004-2005. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 21(3), 127-132.
- Felsenstein. J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4): 783–791.
- Fleck. C. Z., Savić, V., Kozačinski, L., Njari, B., Zdolec, N., Filipović, I. (2012). Identification of lactic acid bacteria isolated from dry fermented sausages. *Veterinarski Arhiv*. 82(3): 265.
- Gani, M. A., Tallei, T. E., & Fatimawali, F. (2019). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Hasil Fermentasi Selada Romain (*Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam.) Menggunakan Gen 16S rRNA. *PHARMACON*, 8(1), 57-64.

- Khalid. K. (2011). An Overview of Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Biosciences*.1(3): 2.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Wright, A. V. (2012). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. Edisi keempat. *CRC Press*, London
- Liu, S. N., Han, Y., & Zhou, Z. J. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, 44(3), 643-651.
- Marchesi JR. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol*, 64:795-799.
- Meng, Q., Q. Cai, B. Shi, R. Fu, J. Li, X. Chen, K. Qi, M. Zhang, (2012). Optimization of medium composition for production of lactacin LLC518 by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* LLC518 using response surface methodology, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10 : 137-142.
- Pickering, A. C., Yebra, G., Gong, X., Goncheva, M. I., Wee, B. A., MacFadyen, A. C., & Fitzgerald, J. R. (2021). Evolutionary and functional analysis of coagulase positivity among the Staphylococci. *Msphere*, 6(4), e00381-21.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. 3rd ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Pr.
- Senthilraj, R., Prasad, G. S., Janakiraman, K. (2016). Sequence-based identification of microbial contaminants in non-parenteral products. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(2): 330.
- Subagiyo, S., Margino, S., & Triyanto, T. (2016). Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udag Penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(3), 127-132.
- Sukmawati, S., Ratna, W. I. D., Muna, T., Fataharis, Y., & Yunita, M. (2022). Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Mackerel Bekasam as Antibacterial and Probiotic Candidates. *Journal of the Austrian Society of Agricultural Economics (JASAE)*, 18(11): 1335- 1343.
- Sukmawati, S., Rosalina, F., Sipriyadi, S., Dewi, N. K., Yunita, M., Sarhan, A. R. T., & Kusumawati, E. (2022). Bacterial diversity of mangrove ecosystem in Klawalu Sorong, West Papua, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(3).
- Sukmawati, S., Sipriyadi, S., Yunita, M., Dewi, N. K., & Noya, E. D. (2022). Analysis of bacteriocins of lactic acid bacteria isolated from fermentation of rebon shrimp (*Acetes* sp.) in South Sorong, Indonesia as antibacterial agents. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(7).
- Taylor, J. R. N. (2015). Fermentation: Foods and Nonalcoholic Beverages. In *Encyclopedia of Food Grains: Second Edition*. 3(4).

- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285.
- Yang, K. M., Kim, J. S., Kim, H. S., Kim, Y. Y., Oh, J. K., Jung, H. W., & Bae, K. H. (2021). *Lactobacillus reuteri* AN417 cell-free culture supernatant as a novel antibacterial agent targeting oral pathogenic bacteria. *Scientific reports*, 11(1):1631.
- Yu, Z., Chen, J., Liu, Y., Meng, Q., Liu, H., Yao, Q., & Chen, X. (2023). The role of potential probiotic strains *Lactobacillus reuteri* in various intestinal diseases: New roles for an old player. *Frontiers in Microbiology*, 14(30).