

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara yang kaya akan keragaman etnis dan budaya. Hubungan antar etnis dan budaya mempengaruhi perkembangan kuliner yang ada di Indonesia, khususnya makanan tradisional. Studi menunjukkan terdapat ribuan jenis makanan tradisional di Indonesia, beberapa di antaranya menggunakan proses fermentasi dalam pembuatannya (Mulyani *et al.*, 2023). Salah satu produk fermentasi tradisional khas Indonesia adalah dangke, keju yang berasal dari Kabupaten Enrekang, Provinsi Sulawesi Selatan. Dangke diproduksi melalui penggumpalan susu kerbau menggunakan enzim papain dari getah pepaya. Proses produksi dangke melibatkan fermentasi alami yang melibatkan bakteri asam laktat (BAL) yang berperan dalam memberikan cita rasa asam yang khas pada dangke (Maharani *et al.*, 2024; Sulmiyati & Said, 2018).

Bakteri asam laktat (BAL) yang terlibat dalam fermentasi dangke memiliki potensi sebagai probiotik, yaitu mikroorganisme hidup memberikan manfaat kesehatan dengan memperbaiki keseimbangan mikroorganisme dalam inang serta menghambat pertumbuhan patogen (El-Saadony *et al.*, 2021). Penelitian menunjukkan bahwa dangke secara alami mengandung berbagai jenis BAL. Nur *et al.* (2015) mengidentifikasi bahwa BAL dalam dangke terdiri dari dua spesies, yaitu *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*. Kaswi *et al.* (2020) menemukan adanya spesies *Lactobacillus acidophilus* dalam dangke. Penelitian lain yang dilakukan oleh

Zakariah *et al.* (2022) menunjukkan hasil isolasi BAL pada dangke antara lain *Streptococcus lutetiensis*, *Weissella confusa*, dan *Streptococcus equines*, dengan genus *Streptococcus* sebagai genus yang paling banyak ditemukan.

Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari dangke, menunjukkan beragamnya mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi produk tradisional dangke. Keberagaman BAL tidak hanya menambah kekayaan mikrobiota yang ada di dangke, tetapi juga membuka peluang penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi potensi dari setiap spesies BAL yang ditemukan. Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi beberapa isolat BAL dari dangke, yang menunjukkan karakteristik probiotik. Salah satu isolat yang paling menonjol adalah Isolat BAL D15, yang meskipun spesiesnya belum teridentifikasi, telah menunjukkan viabilitas yang baik pada berbagai kondisi pH lambung dan konsentrasi garam empedu. Isolat BAL D15 telah dikoleksi serta disimpan sebagai kultur di Laboratorium Pengembangan Teknik Agro Industri dan Biomedika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Potensi isolat bakteri asam laktat (BAL) D15 tidak hanya terbatas pada kemampuannya sebagai isolat probiotik, BAL D15 dangke memiliki potensi yang jauh lebih luas dan dapat dieksplorasi lebih lanjut, terutama dalam konteks aplikasi yang lebih spesifik. Salah satu area yang menarik untuk dikaji adalah kemampuan isolat BAL D15 dalam menghasilkan senyawa-senyawa bermanfaat selama proses fermentasi, yang dikenal sebagai *postbiotik*. Postbiotik telah menjadi pusat perhatian dalam penelitian

kesehatan dan nutrisi dalam beberapa tahun terakhir, akan tetapi hingga kini belum ada definisi baku yang disepakati secara global. Salah satu definisi yang sering digunakan berasal dari Asosiasi Ilmiah Internasional untuk Probiotik dan Prebiotik (ISAPP), yang mendefinisikan postbiotik sebagai “sediaan mikroorganisme mati dan/atau komponennya yang memberikan manfaat kesehatan pada inangnya” (Salminen *et al.*, 2021).

CFS (*Cell-Free Supernatants*) merupakan salah satu bentuk postbiotik bakteri asam laktat (BAL) yang potensinya telah banyak dibuktikan dalam berbagai penelitian. Beristain-Bauza *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pelapis kemasan yang diperkaya dengan CFS probiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam produk daging, memperpanjang umur simpan produk tanpa perlu menambahkan bahan pengawet sintetis. Teknologi CFS juga telah diadaptasi ke dalam produk komersial di sektor peternakan, khususnya pada ayam broiler. Abd El-Ghany *et al.* (2022) menunjukkan produk komersial *Culbac*®, yang mengandung *postbiotik* berupa CFS dari fermentasi bakteri *Lactobacillus*, dalam bentuk cair maupun kering. Penggunaan *Culbac*® pada ayam broiler, baik melalui air minum maupun pakan, terbukti secara signifikan mengurangi jumlah patogen usus, serta meningkatkan berat badan ayam, menunjukkan efektivitas postbiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan meningkatkan efisiensi pakan.

Eksplorasi lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri dari isolat BAL (bakteri asam laktat) D15 dalam bentuk CFS (*Cell-Free Supernatants*) menjadi relevan. Isolat BAL D15 dangke dipilih sebagai isolat uji karena

telah teliti sebagai kandidat probiotik. Pada penelitian, akan dilakukan analisis potensi aktivitas antibakteri ekstrak CFS BAL D15 dangke yang dihasilkan melalui proses fermentasi dari berbagai komposisi media, yang bertujuan untuk menganalisis aktivitas CFS dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* secara *in vitro* melalui pengamatan zona hambat. Seta dilakukan pencarian media fermentasi yang tepat, yang dapat diaplikasikan secara luas dengan biaya produksi yang rendah dan mudah dijangkau bagi industri.

Studi menunjukkan bahwa media fermentasi alternatif dapat digunakan sebagai media fermentasi BAL. Tiga media fermentasi alternatif dipilih berdasarkan pencarian literatur dengan variasi sumber karbon berbeda: bekatul 12% (Zubaidah *et al.*, 2014), whey tahu dengan tambahan 5% glukosa (Yeni *et al.*, 2016), dan kombinasi 12% whey tahu dan 10% susu skim (Nasution *et al.*, 2021) untuk menentukan media yang berpotensi mendukung produksi senyawa antibakteri CFS BAL D15 dangke melalui pengamatan zona hambat. Karena penggunaan media alternatif tidak lepas dari kekurangan, penelitian ini juga akan melakukan modifikasi dengan penambahan sumber karbon laktosa 1% dan tiga variasi sumber nitrogen; yeast extract, pepton, dan hidrolisat Casein (0,76 g/L) pada media fermentasi alternatif terpilih. Komposisi laktosa 1% dipilih dimaksudkan untuk meminimalkan efek *catabolite repression*, yaitu mekanisme yang dapat membuat BAL terjebak dalam fase pertumbuhan terus-menerus dan menghambat produksi metabolit. Sedangkan penentuan sumber nitrogen

dilakukan untuk menentukan sumber nitrogen yang dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari CFS isolat BAL D15.

1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak CFS (*Cell-Free Supernatants*) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 yang diproduksi pada media MRSB (*de Man Rogosa Sharpe Broth*)?
- 1.2.2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak CFS (*Cell-Free Supernatants*) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 yang diproduksi pada tiga media alternatif dengan variasi sumber karbon (Bekatul 12%, Whey + Glukosa 5%, dan Whey 12% + Susu Skim 10%)?
- 1.2.3. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak CFS (*Cell-Free Supernatants*) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 yang diproduksi pada media alternatif modifikasi, dengan penambahan sumber karbon laktosa 1% dan tiga variasi sumber nitrogen, yeast extract, pepton, dan hidrolisat Casein (0,76 g/L)?
- 1.2.4. Senyawa bioaktif apa yang terkandung dalam ekstrak CFS (*Cell-Free Supernatants*) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15?

1.3. Tujuan

- 1.3.1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Cell-Free Supernatant* (CFS) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 yang diproduksi pada

media MRSB (*de Man Rogosa Sharpe Broth*) yang umum digunakan dalam fermentasi BAL.

- 1.3.2. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Cell-Free Supernatant* (CFS) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 yang diproduksi pada tiga media fermentasi alternatif dengan variasi sumber karbon (Bekatul 12%, Whey + Glukosa 5%, dan Whey 12% + Susu Skim 10%).
- 1.3.3. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Cell-Free Supernatant* (CFS) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 pada media alternatif modifikasi dengan penambahan sumber karbon laktosa 1% dan tiga variasi sumber nitrogen, yeast extract, pepton, dan hidrolisat Casein (0,76 g/L).
- 1.3.4. Mengidentifikasi senyawa volatil bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *Cell-Free Supernatant* (CFS) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 serta relevansinya terhadap aktivitas antibakteri.

1.4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan mengenai pengembangan produk antibakteri alami berbasis postbiotik dalam bentuk *Cell-Free Supernatant* (CFS) isolat BAL (Bakteri Asam Laktat) D15 probiotik Dangke. Serta berkontribusi dalam pemilihan media fermentasi alternatif yang efektif dan terjangkau, yang dapat membuka peluang pengembangan lebih lanjut dalam aplikasi industri.