

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan industri pangan global dan peningkatan kesadaran akan pentingnya kesehatan saling terkait dengan peningkatan minat terhadap produk probiotik dan postbiotik. Bakteri Asam Laktat (BAL) telah menjadi fokus penelitian intensif karena peran mereka dalam menjaga keseimbangan microbiota usus dan memberikan manfaat kesehatan. Menurut Hosseini *et al.* (2023) meskipun terdapat kemajuan yang signifikan pada bidang biologi, perlu dilakukan penelitian lebih mendalam terkait peran bakteri pada gastrointestinal termasuk reaksi mereka dalam bersimbiosis dengan sel inang dan menghasilkan berbagai senyawa bioaktif. Salah satu sumber potensial bakteri asam laktat adalah sawi asin (*Brassica rapa L.*) yang telah dikenal sebagai tanaman dengan nilai gizi tinggi dan memiliki keterlibatan dalam proses fermentasi alami. Meskipun penelitian mengenai postbiotik semakin berkembang, sedikit informasi yang tersedia mengenai potensi aktivitas biologis dan karakterisasi senyawa bioaktif dari postbiotik yang berasal dari bakteri asam laktat yang diisolasi dari sawi asin. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Galuh (2023), telah diisolasi BAL *indigenous* dari sawi asin dengan total populasi sebesar $13,3 \times 10^8$ cfu/mL. Dari hasil isolasi tersebut diperoleh 16 isolat yang membuktikan zona bening di sekitar koloninya sebagai indikasi produksi senyawa bioaktif. Di antara isolat tersebut, SA-4 menunjukkan karakteristik sebagai bakteri probiotik dengan aktivitas antibakteri paling baik dibandingkan isolat lainnya. Berdasarkan hasil tersebut, penelitian ini menggunakan isolat SA-4 untuk dianalisis lebih lanjut potensi bioaktivitas postbiotiknya melalui karakterisasi polaritas senyawa yang terkandung dalam postbiotik dan identifikasi molekuler menggunakan metode sekuensing gen 16S rRNA serta

MALDI-TOF MS. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis secara kualitatif senyawa yang terkandung dalam postbiotik yang dihasilkan oleh isolat SA-4 dari bakteri asam laktat indigenous sawi asin. Proses fermentasi sawi asin dilakukan melalui fermentasi spontan oleh bakteri asam laktat, di mana pertumbuhannya yang khas dan dominan sebagai mikroflora dimanfaatkan dalam fermentasi tersebut.

Berdasarkan Setiarto (2021), bakteri asam laktat digolongkan sebagai mikroorganisme yang diakui secara umum sebagai aman (*Generally Recognized as Safe/GRAS*), yang berarti mikroorganisme ini tidak memiliki risiko terhadap kesehatan. Bakteri asam laktat (BAL) diketahui menghasilkan berbagai metabolit bioaktif, termasuk senyawa dengan aktivitas antioksidan dan antimikroba, yang mendukung potensinya sebagai komponen fungsional dalam pangan (Seo *et al.*, 2015). Selain itu, sejumlah strain Bakteri Asam Laktat (BAL) juga telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat enzim α -glukosidase, yang merupakan salah satu enzim di membran *brush border* yang memediasi pencernaan karbohidrat. Enzim ini bertanggung jawab atas hidrolisis oligosakarida dan disakarida di dinding usus halus, memecah ikatan α -1,4-D-glukosa dan melepaskan molekul glukosa (Sales *et al.*, 2012). Beberapa BAL yang memiliki potensi sebagai kandidat antidiabetes telah diidentifikasi, penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dapat mengurangi penyerapan glukosa dan, akibatnya, menurunkan kadar glukosa darah (Chen *et al.*, 2014; Muganga *et al.*, 2015).

Karakteristik senyawa bioaktif dan aktivitas biologis postbiotik dari BAL memerlukan pemahaman yang mendalam terhadap spesies bakteri yang terlibat. Identifikasi spesies bakteri sangat penting karena setiap spesies memiliki karakteristik unik yang memengaruhi kemampuan metaboliknya, termasuk produksi senyawa bioaktif. Penentuan spesies juga penting untuk memastikan potensi aplikatif dari BAL tersebut serta keamanan penggunaannya. Dalam

penelitian ini, metode sekuensing gen 16S rRNA dan *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) digunakan untuk mengidentifikasi isolat SA-4 dari pangan fermentasi sawi asin. Penyekuenan gen 16S rRNA adalah teknik umum yang digunakan untuk identifikasi bakteri secara molekuler. Gen 16S rRNA memiliki bagian konservatif yang stabil dan bagian variabel yang memungkinkan perbedaan pada tingkat spesies. Dalam penelitian ini, DNA genom dari isolat SA-4 diekstraksi, lalu gen 16S rRNA diamplifikasi menggunakan primer 27F dan 1492R, mengikuti metode yang diterapkan oleh Sulistyowati *et al.* (2023). Hasil produk PCR kemudian disekuensing dan dianalisis dengan membandingkan data yang diperoleh dengan database gen 16S rRNA menggunakan perangkat bioinformatika seperti BLAST, untuk mengidentifikasi spesies dari isolat tersebut. Metode ini memiliki tingkat akurasi yang tinggi dan kemampuan untuk mengidentifikasi spesies baru atau yang sulit dikulturkan namun metode ini membutuhkan waktu yang relatif lama, biaya operasional yang relatif mahal dan tenaga ahli khusus dalam bidangnya demi meminimalisir terjadinya kesalahan identifikasi.

MALDI-TOF MS digunakan sebagai metode alternatif untuk identifikasi molekuler bakteri. Metode ini bekerja dengan menganalisis pola sidik jari masa peptida dari protein ribosomal, yang unik untuk setiap spesies bakteri. Sampel isolat SA-4 diproses dan dianalisis menggunakan spektrometer massa. Pola sidik jari masa peptida dalam bentuk spektrum masa dibandingkan dengan database yang ada untuk menentukan spesies isolat. Penggunaan MALDI-TOF MS sebagai pembanding dengan metode konvensional, seperti sekuensing gen 16S rRNA, memberikan beberapa keunggulan, seperti kecepatan analisis dan biaya yang lebih rendah untuk identifikasi massal. Namun, keterbatasan MALDI-TOF MS terletak pada ketergantungan terhadap database yang ada. Oleh karena itu, metode ini dalam penelitian ini difokuskan

sebagai studi awalan untuk mengembangkan pendekatan yang lebih komprehensif dalam identifikasi BAL.

Penggunaan kombinasi metode sekuensing gen 16S rRNA dan MALDI-TOF MS diharapkan dapat memberikan data yang lebih akurat dan mendukung pengembangan metode identifikasi molekuler yang lebih efisien. Studi ini juga diharapkan dapat membuka peluang penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan potensi bioteknologi BAL dari sawi asin sebagai sumber postbiotik yang bermanfaat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil ekstrak postbiotik yang dihasilkan dari isolat SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*)?
2. Bagaimana karakteristik dari profil polaritas dari ekstrak senyawa bioaktif postbiotik yang dihasilkan oleh isolate SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*)?
3. Bagaimana hasil identifikasi molekuler isolate SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*) menggunakan sekuensing gen 16S rRNA dan MALDI-TOF MS?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Melakukan ekstraksi kandungan senyawa bioaktif postbiotik isolat SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*)
2. Melakukan karakterisasi untuk mengetahui profil polaritas dari ekstrak senyawa bioaktif postbiotik dari isolate SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
3. Mengetahui hasil identifikasi molekuler isolate SA-4 bakteri asam laktat sawi asin (*Brassica rapa L.*) menggunakan metode sekuensing gen 16S rRNA dan MALDI-TOF MS

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi teoretis dalam pengembangan ilmu mikrobiologi, bioteknologi, dan pangan, khususnya dalam memahami karakterisasi senyawa bioaktif postbiotik serta teknik identifikasi molekuler mikroorganisme. Secara praktis, hasil penelitian diharapkan dapat diaplikasikan dalam pengembangan produk pangan fungsional berbasis postbiotik yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti imunomodulasi atau aktivitas antimikroba. Studi komparatif mengenai identifikasi molekuler mikroorganisme menggunakan metode 16S rRNA sequencing dan MALDI-TOF MS dalam penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk metode identifikasi yang lebih cepat dan akurat.