

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Fermentasi pangan merupakan salah satu metode pengolahan tradisional yang memiliki peranan penting dalam meningkatkan mutu dan keamanan pangan. Proses fermentasi tidak hanya memperpanjang umur simpan bahan pangan tetapi juga menghasilkan metabolit fungsional, seperti asam organik dan senyawa antimikroba, yang mampu menekan pertumbuhan mikroba patogen dalam makanan (Ajibola *et al.*, 2023). Bakteri asam laktat (BAL) termasuk *Lactiplantibacillus plantarum*, merupakan kelompok mikroorganisme dominan dalam banyak produk fermentasi sayuran, seperti sayur asin dan *sauerkraut*, yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen. Penelitian oleh Rahman *et al.* (2025) menunjukkan bahwa senyawa yang dihasilkan oleh BAL, seperti postbiotik dan *bacteriocin-like inhibitory substances* (BLIS), mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus*. Sehingga, BAL umum digunakan sebagai agen biopreservatif alami yang potensial dan digunakan untuk pengembangan aplikasi pangan fungsional dan pengawet alami.

Lactiplantibacillus plantarum, yang sebelumnya diklasifikasikan sebagai *Lactobacillus plantarum*, merupakan spesies BAL dengan distribusi ekologi yang sangat luas di alam. Spesies ini memiliki fleksibilitas metabolik tinggi sehingga dapat diisolasi dari berbagai sumber

mulai dari fermentasi nabati hingga saluran pencernaan manusia. Kemampuan adaptasinya yang baik memungkinkan bakteri ini bertahan dalam kondisi lingkungan yang ekstrem, termasuk fluktuasi pH dan keterbatasan nutrisi (Yilmaz *et al.*, 2022). Karakteristik tersebut menjadikan *L. plantarum* sebagai kandidat utama dalam pengembangan agen probiotik serta pengawet alami bagi industri pangan modern karena mampu menghasilkan senyawa antimikroba kuat yang dikenal sebagai bakteriosin atau *plantaricin*. *Plantaricin* termasuk dalam kelompok bakteriosin tipe II yang memiliki spektrum aktivitas antibakteri luas terhadap berbagai mikroba patogen pangan melalui mekanisme pembentukan pori pada membran sel target yang memicu kebocoran metabolit dan kematian sel secara efektif (Mokoena, 2017). Berdasarkan penelitian Azzahra *et al.* (2025), penggunaan *plantaricin* dianggap lebih unggul dibandingkan antibiotik sintetis karena sifatnya yang mudah terurai secara alami dalam tubuh tanpa efek samping. Namun, kapasitas produksi *plantaricin* bersifat spesifik dan sangat bergantung pada keberadaan kluster gen penyandi dalam genom strain tersebut, seperti penelitian yang dilakukan Sogandi *et al.*, (2019) yang menggunakan strain *L. plantarum* dari beberapa pangan tradisional asal Indonesia, seperti tempoyak, bekasam, dan tapai untuk mengetahui karakterisasi dan deteksi gen penyandi *plantaricin*.

Indonesia memiliki kekayaan pangan tradisional berbasis fermentasi sayuran yang sangat beragam, salah satunya yaitu sayur asin. Produk ini

dihasilkan melalui proses fermentasi spontan dalam media garam yang menciptakan kondisi lingkungan ideal bagi pertumbuhan berbagai jenis BAL (Surono *et al.*, 2017). Mangunwardoyo *et al.* (2016) melaporkan bahwa *L. plantarum* merupakan spesies dominan yang berperan penting dalam pembentukan karakteristik sensoris sayur asin. Keberagaman genetik isolat lokal dari sayur asin memberikan potensi besar untuk dieksplorasi lebih lanjut guna menemukan strain unggul produsen *plantaricin*. Namun, dalam konteks riset dan aplikasi industri modern, pemanfaatan isolat potensial tidak dapat bergantung pada metode isolasi berulang dari produk sayur asin segar secara terus-menerus. Karakteristik fermentasi spontan di alam bebas bersifat dinamis dan tidak konsisten, sehingga strain unggul yang dihasilkan rentan berubah. Oleh karena itu, langkah pengamanan isolat unggul asal sayur asin ke dalam bentuk gliserol pada penyimpanan suhu ultra-rendah (*cryostorage*) menjadi standar yang penting dilakukan untuk menjaga keberlanjutan dan kemurnian *bio-resource* tersebut untuk digunakan dalam industri pangan di masa depan.

Penelitian oleh Sulistiani (2017) telah berhasil mengisolasi isolat BAL dari sayur asin yang menunjukkan aktivitas antibakteri tinggi dan teridentifikasi sebagai *L. plantarum* penghasil *plantaricin*. Aktivitas tersebut menjadi indikator penting potensi aplikatif isolat dalam bidang keamanan pangan maupun pengembangan probiotik. Namun demikian, seluruh isolat tersebut telah disimpan dalam kondisi *cryostorage* pada suhu -80°C selama lebih dari lima tahun. Meskipun penyimpanan jangka

panjang pada suhu ultra-rendah merupakan metode standar untuk mempertahankan viabilitas dan stabilitas genetik mikroorganisme (Rajput *et al.*, 2025), namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan jangka panjang dalam kurun waktu tahunan tetap berpotensi memengaruhi viabilitas sel, stabilitas membran sel, dan aktivitas fungsional bakteri (Gisela *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2025), serta kemampuannya dalam memproduksi bakteriosin (Md Sidek *et al.*, 2018).

Kriopreservasi merupakan metode yang efektif untuk mempertahankan material biologis, seperti sel, organel, dan jaringan, pada kondisi suhu yang sangat rendah. Teknik kriopreservasi juga banyak digunakan dalam penyimpanan mikroorganisme dalam jangka waktu yang panjang, bahkan hingga mencapai 30 tahun, tanpa menyebabkan perubahan pada karakteristik genetik maupun fisiologisnya (Park *et al.*, 2021). Secara teoritis, kriopreservasi ditujukan untuk menghentikan aktivitas metabolik sel secara sementara tanpa mematikan sel, di mana penggunaan agen krioprotektan (*cryoprotective agent*) seperti gliserol berfungsi melindungi integritas intraseluler dengan cara menembus membran dan memodifikasi pembentukan kristal es yang dapat merusak membran sel (Jaiswal & Vagga, 2022). Meskipun metode *cryostorage* dilaporkan relatif aman dalam mempertahankan viabilitas isolat (Prakash *et al.*, 2020), namun fokus dari penelitian saat ini tidak lagi hanya berfokus pada fermentasi sayur asin mentah, tetapi juga pada kemampuan isolat dalam mempertahankan stabilitas aktivitas biologisnya setelah mengalami

penyimpanan beku jangka panjang. Pada bakteri asam laktat seperti *L. plantarum*, penyimpanan jangka panjang dalam *cryostorage* memerlukan evaluasi berkala untuk memastikan bahwa kemampuan metabolisme sekunder, seperti proses produksi senyawa antimikrobanya, tidak mengalami degradasi signifikan akibat stres dingin yang berkepanjangan.

Penyimpanan isolat beku pada suhu ultra-rendah yang melewati kurun waktu tertentu dapat menyebabkan sel bakteri mengalami resiko stres dingin (*cold stress*) berkelanjutan. Penelitian mengenai stabilitas kemampuan antibakteri isolat *L. plantarum* pasca-*cryostorage* masih relatif terbatas, khususnya pada isolat lokal asal pangan fermentasi tradisional Indonesia. Beberapa penelitian sebelumnya yang dilakukan Park *et al.* (2021) dan Wang *et al.* (2025) lebih berfokus pada viabilitas sel pasca-penyimpanan, sementara data mengenai keberadaan gen *plantaricin* dan aktivitas antibakteri pasca-*cryostorage* masih terbatas. Penyimpanan jangka panjang berpotensi menyebabkan terjadinya diskoneksi antara profil genotipe (keberadaan gen di dalam DNA) dengan ekspresi fenotipenya (aktivitas nyata antimikroba yang dihasilkan). Oleh sebab itu, kepastian mengenai stabilitas produksi *plantaricin* pasca-*cryostorage* jangka panjang menjadi parameter penentu bagi jaminan mutu (*quality assurance*) penelitian bioprospeksi di masa mendatang. Jika komponen genetik yang berperan dalam biosintesis bakterisosin tetap terjaga kestabilannya, maka tahapan hilirisasi bioproduk, seperti ekstraksi, purifikasi, hingga formulasi *plantaricin* sebagai pengawet alami dapat

dilakkan secara lebih konsisten dan terpercaya. Sedangkan, tanpa adanya evaluasi dan pemantauan secara berkala, penyimpanan isolat dalam jangka panjang berpotensi menyebabkan penurunan ekspresi genetik yang dapat memengaruhi keberhasilan produksi bakteriosin. Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengevaluasi viabilitas dan keberhasilan peremajaan isolat, mendeteksi keberadaan komponen gen penyandi *plantaricin* secara molekuler, dan menguji aktivitas fungsional antibakteri pada isolat *L. plantarum* asal sayur asin pasca-*cryostorage* jangka panjang.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana viabilitas dan kemampuan pertumbuhan kembali (*recovery*) isolat bakteri asam laktat asal sayur asin yang telah disimpan dalam sistem *cryostorage* suhu -80 °C selama lebih dari lima tahun?
2. Apakah gen penyandi *plantaricin* pada isolat *L. plantarum* tersebut masih dapat terdeteksi secara molekuler menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pasca-penyimpanan jangka panjang?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri isolat *L. plantarum* pasca-*cryostorage* terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengevaluasi viabilitas dan keberhasilan peremajaan isolat bakteri asam laktat asal sayur asin pasca-*cryostorage* jangka panjang pada suhu -80 °C.
2. Mengindikasikan keberadaan gen penyandi *plantaricin* pada isolat *L. plantarum* secara molekuler menggunakan metode PCR setelah masa penyimpanan lebih dari 5 tahun.
3. Menguji kemampuan supernatan kultur dan sel hidup isolat *L. plantarum* pasca-*cryostorage* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah dan basis data mikrobiologi mengenai pengaruh penyimpanan ultra-rendah jangka panjang (*cryostorage*) terhadap stabilitas genetik dan ekspresi fungsional metabolit sekunder (bakteriosin) pada bakteri asam laktat fermentasi tradisional Indonesia
2. Memberikan rekomendasi praktis dan evaluatif bagi pengelolaan koleksi kultur mikroba (*culture collection*) industri pangan dan probiotik mengenai pentingnya pemantauan berkala terhadap kestabilan regulasi gen transkripsi pasca-kriopreservasi.