

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman hayati di Indonesia sangat tinggi yang mana salah satu contoh sumber hayatinya yaitu tanaman buah (Taufiq, 2014). Fermentasi alami pada buah yang berhubungan dengan proses pematangan buah dapat terjadi karena adanya *resident microflora* golongan probiotik (Swain dan Ray, 2017). Probiotik merupakan mikroorganisme yang dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia jika diberikan dalam jumlah yang cukup (James dkk. 2019). Manfaat probiotik antara lain membantu pencernaan, melindungi dari toksikan, dan dapat memproduksi antibiotik (Prawan dan Bhima, 2017). Sebagai penghasil antibiotik, probiotik dapat menjadi solusi alternatif dalam mengatasi masalah resistensi antibiotik pada bakteri patogen atau MDRO (*Multi Drug Resistant Organism*) seperti MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) dan ESBLs (*Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase producing Enterobacteriaceae*). Probiotik dapat menjadi sumber penghasil antibiotik baru sebagai pengganti antibiotik konvensional yang telah banyak mengalami resistensi (Cavera dkk. 2015).

Salah satu golongan terbesar mikroorganisme yang dapat berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat (Prawan dan Bhima, 2017). Bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan aktivitas antibiotik yang kuat. Selama ini BAL digunakan sebagai prservatif makanan dan juga mampu melawan bakteri patogen dengan memproduksi antibiotik peptida atau bakteriosin selama fermentasi (Cardell dan Za, 2005). Bakteriosin sebagai antibiotik memiliki aktivitas penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain dengan beberapa mekanisme. Mekanisme penghambatan bakteriosin sebagai antibiotik antara lain dengan menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis protein, menghambat sistesi DNA, serta merusak membran sel. Seperti halnya antibiotik konvensional, berbagai mekanisme ini tergantung dari jenis bakteriosinnya (Cavera dkk. 2015).

Bakteriosin merupakan protein yang aktif secara biologi atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein) yang disintesis secara ribosomal oleh bakteri asam laktat. Bakteriosin disintesis seperti protein pada umumnya yang mengikuti pola transkripsi dan translasi. Sintesis bakteriosin diatur oleh plasmid DNA ekstrakromosomal dan dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama pH (Hafsah, 2014).

Berbeda dengan kelompok antibiotik konvensional yang disintesis secara ribosomal sebagai prepeptida kemudian mengalami modifikasi, umumnya bakteriosin disintesis melalui jalur ribosomal. Sekresi prepeptida antibiotik dilakukan pada fase eksponensial dan diproduksi secara maksimal pada fase stasioner, sedangkan bakteriosin disintesis selama fase eksponensial pertumbuhan sel. Prinsip regulasi sintesis bakteriosin diatur oleh adanya gen pengkode produksi dan pengkode imunitas (Hafsah, 2014).

Bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dapat diisolasi dengan cara menumbuhkan pada beberapa media seperti MRS (*de Man Rogosa Sharpe*), APT (*All Purpose Tween*), BHI (*Brain Heart Infusion*), TSB (*Tripticase Soy Broth*), dan TSBYE (*Tripticase Soy Broth Yeast Extract*) sehingga dapat menghasilkan populasi sel bakteri yang tinggi dan bakteriosin yang relatif banyak. Pada banyak penelitian digunakan MRS sebagai media isolasi karena selain dapat menumbuhkan bakteri yang menghasilkan bakteriosin, media ini juga dapat menunjukkan aktivitas bakteriosin (Yang dkk. 2018). Jenis sumber karbon maupun sumber nitrogen yang digunakan dalam medium produksi dapat mempengaruhi laju pertumbuhan sel bakteri asam laktat dan selanjutnya berpengaruh terhadap metabolisme produksi bakteriosin. Selain itu tingkat salinitas medium produksi seperti kandungan garam dari media turut mempengaruhi metabolisme produksi bakteriosin (Hafsah, 2014).

Ketika isolat bakteri yang tidak diketahui harus diidentifikasi, metode yang dapat dilakukan yaitu dengan teknik fenotip dan genotip baik secara *culture-dependent* maupun *culture-independent* (Temmerman, Huys dan Swings, 2004). Namun telah terjadi pergeseran ke arah penggunaan metode karakterisasi genotip untuk memberikan klasifikasi dan diferensiasi yang lebih kuat dengan daya pemisahan berdasarkan karakteristik tertentu, seperti dengan Sequencing 16S atau 23S rDNA. Urutan yang didapat kemudian dibandingkan dengan urutan DNA yang disimpan dalam database online dari DNA yang sebelumnya telah diurutkan (Makarova dkk. 2006). Penggunaan gen 16R rRNA PCR sebagai alat untuk identifikasi bakteri menjadi pilihan karena gen 16S rRNA hadir di semua bakteri. 16S rRNA gen terdiri dari sekuens nukleotida yang sangat terkonservasi, diselingi dengan daerah variabel yang spesifik genus atau spesiesnya. PCR primer menargetkan daerah rRNA yang memperkuat urutan variabel gen rRNA. Bakteri dapat diidentifikasi oleh analisis urutan nukleotida produk PCR diikuti dengan membandingkan urutan ini dengan urutan yang telah dikenali sebelumnya dan disimpan dalam database (Jenkins dkk. 2012).

Penelitian mengenai isolasi bakteri asam laktat dan bakteriosin telah banyak dilakukan. Pada buah-buahan, salah satunya adalah buah coklat atau kakao berpotensi adanya bakteri asam laktat (Urnemi dkk. 2019). Keanekaragaman bakteri asam laktat ditemukan selama fermentasi biji kakao karena peran enzim proteasenya dapat menghasilkan asam amino dari proses proteolisis yang merupakan prekursor utama rasa senyawa tertentu, seperti berbagai alkohol, aldehida, asam, ester dan senyawa sulfur (Syukur, 2013; Urnemi dkk., 2019). Pada pulpa buah coklat atau kakao yang berair mengandung karbohidrat yang merupakan nutrisi dari bakteri asam laktat dan merupakan substrat dari proses fermentasi. Sehingga keanekaragaman bakteri asam laktat dapat ditemukan pada bagian pulpa serta cairan pulpa tersebut (Hatiningsih, 2015). Namun dari penelitian yang dilakukan Fitriyana, dkk. (2015) bakteri asam laktat ini juga ditemukan dalam biji coklat. Untuk itu bakteri asam laktat di dalam buah coklat dapat ditemukan pada seluruh bagian, yang meliputi biji, pulpa, serta cairan pulpa, kecuali kulit buah.

Buah coklat merupakan salah satu komoditas yang menjadi andalan pertanian Indonesia serta banyak ditemukan di beberapa daerah di Indonesia (Sumiati, Arsyad dan Diansari, 2018). Dengan sumber bahan baku yang mudah didapat, pengolahan lebih lanjut dapat meningkatkan nilai produksi terhadap buah coklat (Bulandari, 2016). Di sisi lain dengan meningkatnya kejadian resistensi, memerlukan adanya penemuan antibiotik baru (Siregar, Sabdono and Pringgenies, 2012). Untuk itu pemanfaatan bakteri asam laktat penghasil bakteriosin di dalam buah coklat sebagai sumber antibiotik baru di Indonesia memungkinkan untuk dilakukan.

Adanya bakteriosin ditunjukkan dengan parameter uji yaitu uji antibiotik terhadap bakteri patogen maupun mikroorganisme parasite lain seperti kapang (Urnemi dkk. 2019, Hatiningsih, 2015). Identifikasi bakteri asam laktat dari buah coklat ini menjadi hal yang penting agar dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengembangan antibiotik baru. Untuk itu mengidentifikasi bakteri asam laktat dari buah coklat dengan metode genotip serta adanya aktivitas antibiotik lebih lanjut, utamanya untuk bakteri patogen pada buah kakao di Indonesia perlu dibahas dalam *review article* ini. Akan dibahas terkait skrining bakteri asam laktat dari buah coklat yang menghasilkan antibiotik dengan aktivitas paling optimal, kemudian dilanjutkan dengan pembahasan mengenai proses isolasi dan identifikasi bakteri tersebut dengan menggunakan gen 16S rRNA.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat bakteri asam laktat dalam buah coklat (*Theobroma cacao*) yang memiliki aktivitas antibiotik?
2. Apa spesies bakteri asam laktat yang diisolasi dari buah coklat (*Theobroma cacao*) sebagai penghasil bakteriosin?

## 1.3 Tujuan

1. Untuk menemukan bakteri asam laktat dalam buah coklat (*Theobroma cacao*) yang memiliki aktivitas antibiotik
2. Untuk mengetahui spesies bakteri asam laktat dari buah coklat (*Theobroma cacao*) sebagai penghasil bakteriosin.

## 1.4 Manfaat

Untuk memberikan informasi dan data ilmiah mengenai pengembangan sumber alternatif antibiotik baru.