

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI ANTIMIKROBA PADA BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS *STINGLESS BEE*

Hasgun¹, Yusuf Sama¹, Reskianto Depparinding¹, Alfiana¹, Auliyah Rahman¹, Baso Manguntungi^{1*}, Arlinda Puspita Sari¹, Ariandi¹, Nurmuliayanti Muis¹

¹Universitas Sulawesi Barat, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Prodi Pendidikan Biologi

*e-mail: manguntungibaso@unsulbar.ac.id

Abstrak

Stingless bee merupakan lebah yang tidak mempunyai sengat dan memiliki kemampuan memproduksi propolis tinggi sebagai mekanisme pertahanan diri dan sebagai antibiotik terhadap bakteri ataupun cendawan. Pada penelitian ini dilakukan proses isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan *stingless bee* asal Sumbawa yang dilanjutkan dengan karakterisasi BAL, dan uji antimikroba dari metabolit BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil isolasi diperoleh 20 isolat bakteri, kemudian dilakukan skrining BAL melalui uji katalase dan pewarnaan gram, diperoleh 18 isolat BAL. Kandidat isolat BAL dikulturkan selama 24 jam, kemudian mengisolasi ekstrak kasar metabolit BAL. Hasil isolasi ekstrak kasar metabolit BAL diujikan ke bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* selama enam jam menggunakan metode difusi agar, kemudian dilakukan pengukuran zona bening pada jam kedua, keempat dan keenam untuk mengetahui efektivitas daya hambat/antimikroba metabolit BAL. Hasil uji menunjukkan metabolit isolat PRT 9 memiliki kemampuan tertinggi dibandingkan dengan 17 isolat BAL lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa BAL dari usus *Stingless bee* memiliki potensi antibiotik yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat dikembangkan menjadi produk probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan manusia.

Kata kunci— bakteri asam laktat, *Stingless bee*, Sumbawa, antimikroba.

Abstract

Trigona spp. is a bee that has no sting (*stinglees bee*) and has the ability to produce high propolis as a defense mechanism and as an antibiotic against bacteria or fungi. In this research the isolation of lactic acid bacteria from the digestive tract *Trigona spp.* Sumbawa origin followed by characterization of lactic acid bacteria, and antimicrobial test of lactic acid bacterial metabolites against *Salmonella thypi* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The isolation results obtained 20 bacterial isolates, then screening for lactic acid bacteria through catalase test and gram staining, obtained 18 isolates of lactic acid bacteria. The lactic acid bacteria isolate candidate was cultured for 24 hours, then isolated the crude extract of lactic acid bacterial metabolites. The

results of isolation of crude extracts of lactic acid bacterial metabolites were tested on *S. thypi* and *S. aureus* bacteria for six hours using the agar diffusion method, then the clear zone measurements were made in 2 the second, fourth and sixth hours to determine the effectiveness of the inhibitory /antimicrobial metabolites of lactic acid bacteria. The test results showed that PRT 9 isolate metabolites had the highest ability compared to 17 other lactic acid bacteria isolates in inhibiting the growth of *S. thypi* and *S. aureus*. It can be concluded that BAL from the intestines of Stingless bees has good antibiotic potential in inhibiting the growth of pathogenic bacteria so that it can be developed into a probiotic product that is beneficial for human health.

Keywords—lactic acid bacteria, Stingless bee, Sumbawa, antimicrobial activities

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki ≥ 46 spesies *Stingless bee* atau lebah tidak bersengat yang tersebar di berbagai pulau [1]. Jumlah ini dapat lebih banyak lagi karena tiap daerah memiliki keragaman spesies yang berbeda. Beberapa spesies yang dapat ditemukan di pulau Jawa antara lain *Tetragonulla iridipennis*, *T. laeviceps*, *Trigona apicalis*, *Lepidotrigona nitidiventris*, *L. ventralis*, *L. terminate*, *T. fuscobalteata*, serta *Trigona itama* [2, 3]. Menurut Kahono *et al.* [1] *T. laeviceps* merupakan jenis *Stingless bee* yang memiliki persebaran paling luas karena dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan manusia. *Stingless bee* juga banyak ditemukan di Sumbawa. Menurut Rosyidi *et al.* [4] *Stingless bee* mempunyai keunggulan memproduksi propolis dengan kandungan antioksidan IC₅₀ lebih tinggi dibandingkan dari lebah madu *Apis*.

Penelitian sebelumnya telah dilakukan proses isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan pada berbagai jenis lebah madu yang memiliki potensi sebagai probiotik. Bakteri *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 yang diisolasi dari saluran usus *Apis mellifera* [5] dan *Lactobacillus salivarius* A3iob juga berhasil diisolasi dari usus lebah madu *Apis mellifera* L. [6]. Audisio [7] menemukan dua strain probiotik potensial *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 dan *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* Mori2 yang mampu meningkatkan produksi telur ratu lebah dan produksi madu lebih tinggi, selain itu bakteri probiotik ini mampu menekan timbulnya penyakit noseosis dan varroosis pada lebah *Apis mellifera* L. *Lactobacillus plantarum* dari usus *Apis cerana indica* juga memiliki potensi probiotik, dan merupakan kandidat potensial untuk digunakan sebagai makanan selain aplikasi dalam industri nutraceutical dan farmasi. *Bifidobacteria* juga berhasil diisolasi dari usus lebah dari *Bombus lapidarius*, *Bombus terrestris* dan *Bombus hypnorum* dengan isolasi langsung pada modifikasi media *trypticase phytone yeast agar* [8]. Hroncova *et al.* [9] menemukan berbagai kelompok *Lactobacilli* (Firmicutes) dan *Gilliamella spp.* (Gamma proteobacteria) dengan presentasi tinggi yang diisolasi dari saluran pencernaan berbagai jenis umur dan lokasi *Apis mellifera*.

Penelitian yang dilakukan oleh Manguntungi *et al.* [10] berhasil mengisolasi 10 bakteri asam laktat dari madu hitam yang diproduksi oleh lebah *Trigona spp.* Namun, belum ada yang melakukan isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan lebah tidak bersengat (*Stingless bee*), sehingga peneliti melaksanakan proses isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan *Stingless bee* asal Sumbawa yang dilanjutkan dengan karakterisasi BAL, dan uji antimikroba metabolit BAL terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Isolasi Bakteri

Lebah tidak bersengat (*Stingless bee*) diperoleh dari Desa Kelungkung, Kecamatan Batu Lanteh, Kabupaten Sumbawa. Bagian perut khususnya saluran pencernaan dari *Stingless bee*. diambil dan dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis (NaCl) 0.85%. Selanjutnya dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1} s.d. 10^{-6} lalu diinokulasikan pada media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) + CaCO₃ 0.5% [11] dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* pada suhu ruang selama 48 jam. Isolat yang membentuk zona bening pada media kemudian dimurnikan. Isolat murni yang diperoleh dinokulasikan pada media agar miring MRSA sebagai stok.

2.2. Uji Morfologi, Pewarnaan Gram dan Uji Katalase

Uji morfologi bakteri meliputi bentuk, tepian, ketinggian, ukuran, penampilan koloni, tekstur dan pigmentasinya. Uji Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengambil satu koloni isolat bakteri, kemudian ditetaskan pada kaca preparat menggunakan mikropipet, kemudian dipanaskan di dekat api hingga isolat kering. Isolat bakteri ditetesi dengan kristal ungu, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan akuades. Hasil pewarnaan kristal ungu ditetesi dengan lugol, didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan akuades. Hasil pewarnaan lugol ditetesi dengan etanol, dicuci dengan akuades. Hasil pewarnaan dengan etanol ditetesi dengan safranin, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan akuades. Kemudian hasil pewarnaan diamati menggunakan mikroskop. Uji katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada gelas obyek yang bersih. Isolat bakteri ditetaskan pada gelas obyek yang telah ditetesi hidrogen peroksida. Suspensi dihomogenkan secara perlahan. Hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara [11].

2.3. Uji Antimikroba

Bakteri asam laktat dikulturkan dalam media MRSB selama 24 jam, kemudian mengambil ekstrak kasar metabolit BAL untuk dilakukan pengujian daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi sumur. Kontrol positif terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. thypi* menggunakan antibiotik *ampicillin*. Kedua bakteri patogen dibiakkan kedalam 10 mL media Nutrien Broth steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian 5 mL biakan bakteri disebarkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan 20 mL media nutrien agar bersuhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Biakan bakteri didiamkan pada suhu kamar sampai agar memadat, kemudian biakan dilubangi dengan diameter ± 5 mm. Ekstrak kasar metabolit BAL sebanyak 50 μL dimasukkan kedalam lubang tersebut dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Zona bening menandakan sampel memiliki aktivitas antibakteri [12]. Pengamatan zona bening dilakukan pada jam ke-2, ke-4 dan ke-6. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik ANOVA menggunakan SPSS 20.0

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Morfologi, Pewarnaan Gram dan Katalase

Hasil isolasi bakteri dari bagian perut khususnya saluran pencernaan dari *Stingless bee* diperoleh dua puluh isolat bakteri. Hasil pengamatan ciri morfologi menunjukkan ciri

morfologi koloni yang sama yaitu koloni berbentuk bujur, tepian rata, cembung dengan ukuran kecil, bertekstur mukoid, dengan properti optik buram dan tanpa pigmentasi. Kedua puluh bakteri diskriminasi untuk menyeleksi bakteri asam laktat dengan indikator pewarnaan Gram positif dan uji katalase negatif. Tabel 1 menunjukkan hasil uji pewarnaan Gram dan uji katalase, diperoleh 18 isolat bakteri asam laktat yaitu PRT 1, PRT 2, PRT 4, PRT 6, PRT 7, PRT 8, PRT 9, PRT 10, PRT 11, PRT 12, PRT 13, PRT 14, PRT 15, PRT 16, PRT 17, PRT 18, PRT 19, dan PRT 20.

Tabel 1. Hasil uji pewarnaan gram dan uji katalase

Isolat Bakteri Asam Laktat	Uji Pewarnaan Gram	Uji Katalase
PRT 1	+	-
PRT 2	+	-
PRT 3	+	+
PRT 4	+	-
PRT 5	-	-
PRT 6	+	-
PRT 7	+	-
PRT 8	+	-
PRT 9	+	-
PRT 10	+	-
PRT 11	+	-
PRT 12	+	-
PRT 13	+	-
PRT 14	+	-
PRT 15	+	-
PRT 16	+	-
PRT 17	+	-
PRT 18	+	-
PRT 19	+	-
PRT 20	+	-

Keterangan: Pewarnaan gram: (+) bakteri gram positif, (-) bakteri gram negatif

Hasil penelitian Al-Ghamdi *et al.* [13], berhasil mengisolasi tujuh bakteri probiotik dari usus *Apis mellifera jemenitica*, lebah madu lokal asal Arab Saudi yaitu *Fructobacillus fructosus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus kunkeei*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter kobei*, dan *Morganella morganii*. Audisio *et al.* [5] juga berhasil mengisolasi delapan strain *Lactobacillus spp.* dan lima strain *Enterococcus spp.* dari usus lebah pekerja *Apis mellifera* L. Hasil pengujian molekuler 16S rRNA mengungkapkan bahwa strain AJ5, IG9, A15 dan CRL1647 memiliki 99% kemiripan identitas dengan *Lactobacillus johnsonii*, sedangkan SM21 menunjukkan kemiripan 99% dengan *Enterococcus faecium*. Praet *et al.* [8] mengisolasi *Bifidobacterium commune* sp. nov dari saluran pencernaan lebah *Bombus spp.* yang termasuk dalam strain bakteri gram positif, tidak motil, dan katalase negatif.

Uji Metabolit BAL terhadap bakteri patogen

Delapan belas isolat BAL hasil skrining dikulturkan selama 24 jam untuk memperoleh ekstrak kasar metabolit BAL yang selanjutnya digunakan untuk uji antimikroba terhadap bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*. Aktivitas penghambatan dianalisis

melalui pengukuran diameter zona hambat. Tabel 2 menunjukkan hasil uji antimikroba metabolit BAL terhadap bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*.

Tabel 2. Uji metabolit isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen

Isolat	<i>Salmonella thypi</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Zona hambat (mm)					
	Jam 2	Jam 4	Jam 6	Jam 2	Jam 4	Jam 6
Kontrol -	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 1	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 2	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 4	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	1 ± 0 ^b	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 6	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 7	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 8	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 9	0 ± 0 ^a	6 ± 0 ^f	6,7 ± 0,471 ^g	0 ± 0 ^a	1 ± 0 ^b	3 ± 0 ^d
PRT 10	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	5,0 ± 0 ^e	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	1 ± 0 ^b
PRT 11	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^c	5,7 ± 0,471 ^f	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 12	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^d	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 13	0 ± 0 ^a	5 ± 0 ^e	6,3 ± 0,471 ^a	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^d	2 ± 0 ^a
PRT 14	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^d	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 15	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 16	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 17	0 ± 0 ^a	2 ± 0 ^b	1,7 ± 0,471 ^c	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	2 ± 0 ^c
PRT 18	0 ± 0 ^a	4 ± 0 ^d	1 ± 0 ^b	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
PRT 19	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^c	3 ± 0 ^d	0 ± 0 ^a	3 ± 0 ^d	2 ± 0 ^c
PRT 20	0 ± 0 ^a	4 ± 0 ^d	1 ± 0 ^b	0 ± 0 ^a	2 ± 0 ^c	3 ± 0 ^d
Kontrol +	19 ± 0 ^b	23,7 ± 0,471 ^g	24 ± 0 ^h	3,3 ± 0,471 ^b	9,3 ± 0,471 ^e	8,6 ± 0,471 ^e

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama, tidak berbeda nyata, $\alpha=0,05$

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada jam ke-2 aktivitas antibakteri metabolit BAL belum menunjukkan pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan *S. thypi*. Aktivitas penghambatan mulai terlihat pada pengukuran jam ke-4. Terdapat tujuh isolat BAL yang menunjukkan aktivitas penghambatan yaitu isolat PRT 9, PRT 11, PRT 13, PRT 17, PRT 18, PRT 19 dan PRT 20, dengan aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh metabolit isolat BAL PRT 9 sebesar 6±0 mm dan PRT 13 sebesar 5±0 mm. Selanjutnya pada jam ke-6, terdapat tiga isolat yang menunjukkan zona penghambatan tertinggi yaitu PRT 9 sebesar 6,7±0,471 mm, PRT 13 sebesar 6,3±0,471, dan PRT 11 sebesar 5,7±0,471 mm. Ketiga isolat tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori sedang, sebagaimana menurut Davis & Stout [14] bahwa zona bening > 20 mm menunjukkan kemampuan antibakteri sangat kuat, 10-20 mm kategori kuat, 5-10 mm kategori sedang, dan, 5 mm merupakan kategori lemah. Aktivitas penghambatan pertumbuhan *S. thypi* oleh BAL yang diisolasi dari usus *Stingless bee* lebih tinggi dibandingkan BAL yang

diisolasi dari sarang *Trigona spp.* Penelitian Manguntungi *et al.* [15] yang menunjukkan bahwa luas zona penghambatan pertumbuhan *S. thypi* oleh BAL dari sarang lebah *Trigona spp.* hanya sebesar $1,3 \pm 0,471$ mm. Namun, zona bening yang terbentuk dari BAL usus *Stingless bee* lebih rendah dibandingkan BAL yang diisolasi dari kefir dan diamati setelah 18 jam inkubasi, yakni sebesar 24.25 mm [16]. Hal ini diduga dipengaruhi oleh lamanya inkubasi. Pada pengamatan aktivitas antibakteri BAL dari usus *Stingless bee* inkubasi dilakukan hanya selama 8 jam

Perbedaan zona bening yang terbentuk dari tiap perlakuan diduga disebabkan oleh perbedaan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tiap isolat. Seperti halnya dengan bakteri lain, BAL juga menghasilkan beragam metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan dirinya. Menurut Pradana *et al.* [16] BAL mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa asam-asam organik, etanol, hydrogen peroksida, serta bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Namun perlu diketahui bahwa setiap jenis BAL menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda dengan jumlah yang juga berbeda, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri tidak selalu sama.

Tabel 2 juga menunjukkan aktivitas antibakteri metabolit BAL belum memberikan pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada jam ke-2, dan mulai terlihat empat metabolit isolat BAL yang menunjukkan aktivitas penghambatan pada pengukuran jam ke-4 yaitu isolat PRT 9, PRT 13, PRT 19 dan PRT 20. Aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh isolat BAL PRT 13 dan PRT 19 masing-masing sebesar 3 ± 0 mm. Selanjutnya pada jam ke-6, terdapat enam metabolit isolat BAL yang menunjukkan zona penghambatan yaitu PRT 9, PRT 10, PRT 13, PRT 17, PRT 19 dan PRT 20. Aktivitas penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh metabolit isolat PRT 9 dan PRT 20 masing-masing sebesar 3 ± 0 mm. Berdasarkan pengujian antimikroba dengan bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*, metabolit BAL isolat PRT 9 yang konsisten menghasilkan zona hambat dan efektif sebagai antimikroba. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghambat proses pembusukan serta mematikan atau menghambat mikroorganisme patogen melalui produksi asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin. Kemampuan BAL membentuk zat antibakteri (bakteriosin) dan asam organik (asam laktat) akan menghambat bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli* [17]. Selain itu, sifat bakteri asam laktat yang tidak menghasilkan toksin pada makanan menjadikannya aman untuk aplikasi pangan. Kelompok bakteri asam laktat antara lain genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* dan *Leuconostoccus* [18].

Penelitian Al-Ghamdi *et al.* [13] menunjukkan bahwa probiotik *B. licheniformis* dan *L. kunkeei* (hasil isolasi dari saluran pencernaan *Apis mellifera jemenitica*) dapat menghambat proses infeksi *Paenibacillus larvae* pada larva *Apis mellifera jemenitica* dan mengurangi angka kematian larva sebesar 56,67% dan 66,67%. Sabaté *et al.* [19], berhasil mengisolasi tiga *Bacillus subtilis* yaitu C4, M1 dan G2III dari madu dan usus lebah madu Salta Argentina yang mampu memproduksi surfaktan yang menghambat *P. larvae*. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat antibakteri [20]. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa BAL merupakan bakteri probiotik yang menghasilkan berbagai macam jenis metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sebagaimana yang terlihat pula dari penelitian ini menggunakan BAL dari usus *Stingless bee*. Setiap metabolit sekunder yang dihasilkan memiliki mekanisme yang berbeda dalam

menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sebagai contoh bakteriosin menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan menyerang membrane sitoplasma sel. Menurut Prissilia et al. [21] molekul bakteriosin memiliki muatan positif sehingga mampu berinteraksi dengan gugus posfat pada membrane sel yang bermuatan negatif, interaksi tersebut akan membentuk pori yang selanjutnya menyebabkan sel mengalami lisis.

Ditambahkan oleh Audisio dan Benítez-Ahrendts [5], *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, AJ5 dan IG9 yang diisolasi dari usus *Apis mellifera* L. mampu memproduksi asam laktat yang tinggi (nilainya antara 177 dan 275 mM) dan secara in vitro mereka dapat menghambat berbagai patogen pada makanan dan *Paenibacillus larvae* (agen *foulbrood* Amerika). *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 yang diisolasi dari lebah madu *Apis cerana indica*. Asam laktat yang dihasilkan memiliki mekanisme pertahanan melawan bakteri patogen karena sel membrannya bersifat hidrofobik, auto-agregatif dan memiliki kemampuan koagregatif serta memiliki kemampuan memproduksi eksopolisakarida untuk meningkatkan pembentukan biofilm dan kolonisasi bakteri pada saluran usus inang [22].

4. KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri dari perut lebah (saluran pencernaan) *Trigona spp.* asal Sumbawa diperoleh 18 isolat bakteri asam laktat. Metabolit isolat PRT 9 memiliki kemampuan tertinggi dibandingkan dengan 17 isolat BAL lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi* dengan luas zona hambat sebesar $6,7 \pm 0,471$ mm dan *S. aureus* sebesar $3,0 \pm 0$ mm. Saran penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji molekuler 16sRNA untuk menentukan spesies bakteri asam laktat PRT 9.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa) Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi (Ditjen Diktiristek) atas bantuan pembiayaan melalui Program Kreativitas Mahasiswa Artikel Ilmiah (PKM-AI) tahun 2023

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kahono S, Chantawannakul P, Engel MS. 2018. Social bee and the current status of beekeeping in Indonesia. In: Chantawannakul P, William G, Neumann P (eds) Asian Beekeeping in The 21st Century. Springer, Singapore
- [2] Erniwati. 2013. Kajian biologi lebah tak bersengat (Apidae: Trigona) di Indonesia. *MZI*. 12: 29-34.
- [3] Purwanto H & Trianto M. 2021. Species description, morphometric measurement and molecular identification of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: meliponini) in meliponiculture industry in West Java Province, Indonesia. *Serangga*, 26(1), 13-33.

-
- [4] Rosyidi D, Radiati LE, Minarti S, Antonini Y, Costa RG, Martins RP. 2006. 'Floral preferences of a neotropical stingless bee, *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (apidae: meliponina) in urban forest fragment'. *Braz. J. Biol.*, 66(2A), pp. 463-471.
- [5] Audisio MC, Torres MJ, Sabaté DC, Ibarguren C, and Apella MC. 2011. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiological research*. 166(1), 1-13.
- [6] Fanciotti MN, Tejerina M, Benítez-Ahrendts MR, Audisio MC. 2018. Honey yield of different commercial apiaries treated with *Lactobacillus salivarius* A3iob, a new bee-probiotic strain. *Beneficial microbes*. 9(2), 291-298.
- [7] Audisio MC. 2017. Gram-positive bacteria with probiotic potential for the *Apis mellifera* L. honey bee: the experience in the Northwest of Argentina. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 9(1), 22-31.
- [8] Praet J, Meeus I, Cnockaert M, Aerts M, Smagghe G, Vandamme P. 2015. *Bifidobacterium commune* sp. nov. isolated from the bumble bee gut. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 107(5), 1307-1313.
- [9] Hroncova Z, Havlik J, Killer J, Duskocil I, Tyl J, Kamler M, Rada V. 2015. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. *PloS one*, 10(3).
- [10] Manguntungi B, Sari AP, Ariandi, Chaidir RRA, Islam I, Suharli L, Vanggy LR, Sufiyanti N, Al-Fateeh MF, Whatin UF, Pratiwi ID, Kusuma WD. 2020. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari madu hitam sumbawa dan potensinya sebagai senyawa antimikroba. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 7(1): 1-7.
- [11] Desniar, Rusmana I, Suwanto A, Mubarik NR. 2012. Senyawa antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat asal bekasam. *J Akuatika* 3: 135-145.
- [12] Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- [13] Al-Ghamdi A, Khan KA, Ansari MJ, Almasaudi SB, Al-Kahtani S. 2018. Effect of gutbacterial isolates from *Apis mellifera jemenitica* on *Paenibacillus larvae* infected bee larvae. *Saudi journal of biological sciences*. 25(2), 383-387.
- [14] Davis W & Stout T. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, *Appl Microbiol.*, 22(4), 659-65.
- [15] Manguntungi B, Sari AP, Chaidir RRA, Islam I, Vanggy LR, Sufiyanti N, Al-Fateeh MF, Whatin UF, Pratiwi ID, Kusuma WD. 2020. Isolasi, karakterisasi, dan aktivitas antibakteri BAL indigenous dari sarang lebah *Trigona spp.* asal Kabupaten Sumbawa. *Biotropika Journal of Tropical Biology*, 8(1): 13-18.
- [16] Pradana IPE, Dewi SS, Wilson W. 2018. Aktivitas Kefir dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonellatyphi*. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus* (Vol. 1).
- [17] Rostini I. 2007. *Peranan bakteri asam laktat (Lactobacillus plantarum) terhadap masa simpan filet nila merah pada suhu rendah*. Bandung: Universitas Padjajaran.
- [18] Mozzi FRR, Raya, Vignolo GM. 2010. *Biotechnology of Lactid Acid Bacteria*. United Kingdom (GB): Blackwell Publishing LTD. pp 3-5.

- [19] Sabaté DC, Carrillo L, Audisio MC. 2009. Inhibition of *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis* by *Bacillus subtilis* isolated from honeybee gut and honey samples. *Research in Microbiology*. 160(3), 193-199.
- [20] Suskovic JB, Kos, Beganovic, AL, Pavunc K, Habjanic, Matosic S. 2010. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria. *Food Technology Biotechnology*. 48(3) 296–307.
- [21] Prissilia N, Sari R, Apridamayanti P. 2019. Penentuan waktu optimum produksi bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- [22] Honey CC and Keerthi TR. 2018. Probiotic potency of *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 isolated from honey bee gut. *FEMS Microbiology Letters*. 365(4), fnx285.