

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri Gram-positif yang memanfaatkan karbohidrat sebagai substrat fermentasi sehingga menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya. Keberadaan BAL dapat ditemukan pada berbagai jenis makanan fermentasi maupun lingkungan alami lainnya. Beberapa genus yang termasuk dalam kelompok ini antara lain *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, serta *Weissella*. Kelompok bakteri ini umumnya berstatus *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sehingga banyak dimanfaatkan dalam industri pangan. Selain itu, BAL memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan, antara lain menghambat bakteri patogen, mendukung sistem imun, membantu pencernaan laktosa, serta menghasilkan senyawa antimikroba. BAL umumnya memiliki karakteristik morfologi berupa kokus atau batang, tidak membentuk spora, bersifat non-motil, serta mampu berkembang pada kondisi anaerob fakultatif dengan suhu mesofilik. Dalam proses fermentasi, BAL menghasilkan asam organik yang berfungsi menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan patogen, sedangkan keberhasilan fermentasi dipengaruhi oleh jenis substrat, komposisi mikroorganisme, perlakuan selama pengolahan, serta lama waktu fermentasi yang menentukan karakteristik produk pangan fermentasi (Nasution et al., 2022).

Bakteri asam laktat (BAL) ialah bakteri Gram-positif yang memfermentasi senyawa organik hingga menghasilkan asam laktat. BAL umumnya bersifat nonpatogen, nontoksigenik, anaerob, dan tidak membentuk spora. Bakteri ini banyak ditemukan di berbagai lingkungan, termasuk saluran pencernaan, serta berperan dalam menjaga keseimbangan mikrobiota tubuh. Selain mendukung kesehatan pencernaan, Produksi asam oleh BAL selama proses fermentasi memberikan manfaat berupa peningkatan kualitas pangan serta penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk (Sibarani et al., 2023).

Berbagai anggota kelompok bakteri asam laktat (BAL), baik yang dimanfaatkan sebagai kultur murni maupun kultur campuran, telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Meskipun demikian, mekanisme kerja probiotik

hingga saat ini masih belum sepenuhnya dipahami. Oleh karena itu, evaluasi terhadap karakteristik dan aktivitas probiotik perlu dilakukan untuk mengoptimalkan pemanfaatannya dalam bidang pangan dan kesehatan (García-Hernández et al., 2016).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai probiotik dan banyak dimanfaatkan sebagai terapi komplementer. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa BAL memiliki aktivitas antiadipogenesis yang berpotensi mendukung pencegahan dan penanganan berbagai penyakit tanpa menimbulkan efek yang merugikan. Selain itu, BAL juga dipercaya berpotensi membantu mengurangi risiko diabetes melitus tipe 2 (T2D) melalui pengaturan aktivitas enzim glukosidase dengan efek samping yang minimal (Jeong et al., 2021).

1. Morfologi Bakteri Asam Laktat

Secara morfologi, bakteri asam laktat umumnya berbentuk batang (basil) atau kokus, dengan ukuran sel berkisar antara 0,5–2 μm . Memiliki beberapa spesies, seperti *Lactobacillus plantarum*, berbentuk batang panjang, sementara *Streptococcus thermophilus* berbentuk kokus. Bakteri asam laktat tidak membentuk spora dan tidak motil (bergerak), kecuali beberapa spesies, seperti *Pediococcus*, yang dapat bergerak. Dinding sel mereka mengandung peptidoglikan tebal, yang membuatnya tahan terhadap lingkungan asam. Morfologi ini memungkinkan bakteri asam laktat bertahan hidup dalam kondisi fermentasi ekstrem, seperti pH rendah dan kadar garam tinggi (Zheng et al., 2020).

2. Klasifikasi Bakteri Asam Laktat

Kemampuan menghasilkan asam laktat melalui fermentasi karbohidrat menjadi karakteristik khas Bakteri Asam Laktat (BAL), yaitu kelompok bakteri Gram-positif yang memiliki kesamaan secara filogenetik dan fenotipik. Secara taksonomis, kelompok ini diklasifikasikan ke dalam filum Firmicutes dengan urutan klasifikasi sebagai berikut:

Dominan : *Bacteria*

Filum : *Firmicutes (Bacillota)*

Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Lactobacillaceae, Streptococcaceae</i> (tergantung genus)
Genus umum	: <i>Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Enterococcus, Weissella.</i>

Dalam pengembangan taksonomi modern, analisis gen 16S rRNA banyak digunakan untuk menentukan hubungan kekerabatan bakteri asam laktat dengan tingkat akurasi filogenetik yang lebih tinggi. Selain itu, BAL juga menghasilkan berbagai senyawa aktif, salah satunya eksopolisakarida (*exopolysaccharides* atau EPS), yang berperan dalam memperbaiki tekstur serta mendukung proses pembentukan biofilm (Zheng et al., 2020).

B. Biofilm

Biofilm merupakan struktur mikroba yang melekat pada suatu permukaan dan tersusun atas kumpulan sel bakteri yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler atau *Extracellular Polymeric Substances* (EPS). Matriks tersebut terdiri atas polisakarida, protein, dan asam nukleat yang berfungsi melindungi sel mikroba sekaligus membantu proses perlekatan pada permukaan. Biofilm dapat terbentuk pada berbagai jenis permukaan, baik biologis maupun non-biologis, seperti jaringan tubuh, peralatan medis, dan permukaan bahan pangan (Pamudi et al., 2024).

Biofilm pertama kali diamati pada tahun 1674 oleh Antonie van Leeuwenhoek ketika menggunakan mikroskop sederhana untuk mengamati kumpulan mikroorganisme "*animalcules*" yang terdapat pada permukaan gigi manusia. Sejak saat itu, biofilm dikenal sebagai bentuk kehidupan mikroba yang memiliki karakteristik berbeda dengan mikroorganisme yang hidup bebas (planktonik), karena mampu memberikan perlindungan terhadap berbagai pengaruh lingkungan sekaligus menciptakan kondisi fisik dan kimia yang mendukung pertumbuhan serta kelangsungan hidup mikroorganisme.

Biofilm adalah komunitas mikroorganisme yang sel-selnya menempel pada permukaan tertentu dan terbungkus dalam suatu matriks yang diproduksi sendiri, yaitu Extracellular Polymeric Substances (EPS). Matriks EPS tersusun atas

berbagai komponen, seperti polisakarida, protein, dan DNA ekstraseluler, yang terbentuk melalui interaksi hidrofobik, elektrostatik, serta ikatan antarmolekul sehingga berfungsi sebagai media adhesi dan pelindung bagi sel mikroba. Biofilm dapat terbentuk pada berbagai jenis permukaan, baik biologis maupun nonbiologis, dan sebagian besar dihasilkan oleh mikroorganisme yang bersifat patogen. Dibandingkan dengan bakteri yang hidup dalam kondisi planktonik, bakteri yang tumbuh sebagai biofilm memiliki struktur yang lebih kuat, lengket, dan lebih resisten terhadap berbagai agen antimikroba. Sifat tersebut memungkinkan biofilm mempertahankan polisakarida serta berbagai kontaminan organik pada permukaannya, sehingga meningkatkan kemampuan mikroorganisme untuk dapat bertahan hidup pada beragam kondisi lingkungan (Tilahun et al., 2016).

Pembentukan biofilm merupakan salah satu strategi adaptasi mikroorganisme untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya pada berbagai kondisi lingkungan melalui proses adhesi dan pembentukan matriks ekstraseluler. Kemampuan ini memiliki peranan penting dalam proses kolonisasi bakteri, meningkatkan persistensi, serta mendukung interaksi mikroorganisme dengan lingkungan di sekitarnya. Oleh sebab itu, pengujian kemampuan pembentukan biofilm pada bakteri asam laktat (BAL) perlu dilakukan guna mengetahui potensi bakteri dalam mempertahankan viabilitas dan aktivitas biologisnya. Selain itu, mekanisme adhesi dan kolonisasi yang terjadi pada pembentukan biofilm sejalan dengan proses interaksi bakteri terhadap permukaan maupun sel inang sebagaimana telah dijelaskan dalam berbagai penelitian mikrobiologi (Sembiring et al., 2024).

Metode penilaian pembentukan biofilm untuk penyaringan awal dilakukan menggunakan rumus BFI (*Biofilm Formation Index*) yaitu kemampuan suatu bakteri dalam membentuk biofilm (lapisan komunitas bakteri yang menempel di permukaan). Dihitung dengan rumus sebagai $BFI = (A - C) / (B - D)$.

Di mana A adalah absorbansi biofilm setelah pewarnaan dengan kristal violet pada OD570, C adalah absorbansi blanko setelah pewarnaan dengan kristal violet pada OD570, B adalah absorbansi konsentrasi sel setelah inkubasi selama 24 jam pada OD600, dan D adalah absorbansi blanko pelat mikrotiter pada OD600. Kapasitas pembentukan biofilm dari isolat diklasifikasikan menjadi $BFI < 0,7$

Adhesi lemah, BFI 0,7 - 1,6 Adhesi sedang, dan BFI > 1,7 Adhesi kuat (Yao et al., 2025).

1. Mekanisme Pembentukan Biofilm

Biofilm adalah sekumpulan bakteri yang menempel pada permukaan tertentu dan terlindungi oleh suatu matriks ekstraseluler. Pembentukan biofilm dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi serta komunikasi antarsel melalui senyawa kimia. Tahap awal pembentukan biofilm diawali dengan proses adhesi (*reversible attachment*), yaitu saat bakteri planktonik menempel pada permukaan biotik atau abiotik, tetapi masih dapat terlepas. Setelah melekat, bakteri akan menarik mikroorganisme lain sehingga terjadi koagregasi dan terbentuk lapisan biofilm yang semakin berkembang. Pada tahap selanjutnya yaitu kolonisasi (*Irreversible attachment*) Pada tahap awal pembentukan biofilm, sel mikroba mula-mula menempel secara lemah pada permukaan, kemudian proses tersebut berlanjut menjadi perlekatan yang lebih kuat dan spesifik. Pada tahap ini, kompleks bakteri tidak dapat dilepaskan.

Selanjutnya, sel mikroba mulai berkomunikasi melalui produksi sinyal autoinducer yang mengatur ekspresi gen pada tahap pematangan (*Maturation Stage I*). Pada tahap ini, mikroorganisme menghasilkan matriks *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) untuk memperkuat dan menstabilkan struktur biofilm. Produksi EPS menyebabkan biofilm berkembang menjadi beberapa lapisan dengan ketebalan yang dapat mencapai sekitar 10 μm . Tahap pematangan ini berperan penting dalam membentuk struktur biofilm yang lebih stabil.

Pada tahap pematangan II, ukuran mikrokoloni semakin besar hingga mencapai ketebalan sekitar 100 μm . Tahap ini ditandai dengan interaksi antara komunitas bakteri dan matriks ekstraseluler yang mendukung pematangan biofilm, setelah sebelumnya terjadi agregasi sel dan pembentukan mikrokoloni.

Tahap terakhir adalah dispersi, yaitu pelepasan sel dari biofilm yang disertai peningkatan motilitas. Proses ini terjadi melalui penguraian matriks biofilm oleh enzim sakarolitik, sehingga bakteri dapat terlepas dari permukaan dan berpindah untuk membentuk koloni baru (Sahli, 2018).

2. Peran Biofilm pada Bakteri Asam Laktat (BAL)

Biofilm pada BAL memiliki peran penting, di antaranya adalah Peran dalam fermentasi BAL dalam biofilm dapat menjaga stabilitas dan efisiensi fermentasi makanan tradisional melalui kolonisasi yang kuat dan produksi metabolit fermentasi. Biofilm dapat mempercepat proses fermentasi serta meningkatkan kualitas.

Resistensi terhadap antibiotik yaitu Biofilm yang terbentuk oleh BAL meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik dan agen antimikroba. Hal ini disebabkan matriks biofilm yang terdiri dari EPS dapat membatasi penetrasi obat dan memperlambat metabolisme sel bakteri, sehingga bakteri dalam biofilm lebih sulit dibunuh dibandingkan bakteri planktonik. Penelitian menunjukkan bahwa Biofilm *Lactobacillus* dan bakteri BAL lainnya mampu bertahan terhadap pengobatan antibiotik, yang menjadi tantangan dalam mengendalikan infeksi akibat biofilm.

Potensi aplikasi yaitu Biofilm BAL dapat dimanfaatkan dalam Biopreservasi makanan untuk pengawetan alami dan penghambatan mikroba patogen, serta berkontribusi dalam *Biofouling* yang perlu dikendalikan dalam proses industri. Dalam Biopreservasi, Bakteriosin dan Metabolit yang dihasilkan oleh BAL dalam biofilm juga dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen serta memperpanjang masa simpan produk pangan alami. Selain itu, Biofilm BAL juga dapat digunakan dalam proses pengendalian *biofouling* karena kemampuan membentuk lapisan pelindung yang mencegah kolonisasi mikroorganisme patogen pada permukaan peralatan industri (Ahmad Zakaria, Ulfah Utami, 2025).

C. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang yang mampu membentuk biofilm pada media kultur maupun berbagai permukaan. Bakteri ini berperan dalam sejumlah infeksi klinis dan menjadi salah satu penyebab infeksi nosokomial yang dapat memperumit penanganan. Infeksinya dapat dijumpai pada penderita fibrosis kistik, infeksi saluran pernapasan, saluran kemih, dan luka, serta ditemukan pada sampel klinis seperti sputum, urin, pus, feses, cairan serebrospinal, dan sampel infeksi pascaoperasi.

P. aeruginosa memiliki kemampuan untuk tumbuh pada berbagai jenis media dan kondisi lingkungan. Berdasarkan karakteristik fisiologisnya, bakteri ini termasuk dalam kelompok *Gammaproteobacteria* dan mampu memanfaatkan senyawa tertentu sebagai sumber energi. Sejumlah studi menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* dapat membentuk biofilm pada berbagai kondisi. Proses tersebut berkaitan dengan resistensi antibiotik dan dipengaruhi oleh nutrisi, pH, suhu, serta keberadaan senyawa inhibitor.

Pembentukan biofilm oleh bakteri dalam tubuh dapat menimbulkan dampak negatif karena membuat penanganan infeksi menjadi lebih sulit. Kasus infeksi bakteri yang melibatkan pembentukan biofilm juga semakin banyak ditemukan. Selain itu, kemampuan *P. aeruginosa* dalam membentuk biofilm dapat berbeda-beda ketika bakteri tersebut dikultur menggunakan berbagai jenis media cair (Wahyudi & Soetarto, 2021).

D. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kokus Gram-positif yang mampu membentuk biofilm secara kuat pada berbagai permukaan, baik biotik seperti jaringan tubuh maupun abiotik seperti perangkat medis. Kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam membentuk biofilm memberikan keuntungan besar bagi bakteri dalam bertahan hidup. Kemampuan pembentukan biofilm oleh *Staphylococcus aureus* berperan penting dalam terjadinya infeksi kronis dan persisten. Bakteri ini sering ditemukan pada infeksi yang berhubungan dengan alat medis seperti kateter dan implan, serta pada berbagai jenis infeksi seperti luka, Pneumonia, dan Bakteriemia. Biofilm memungkinkan bakteri melekat kuat pada permukaan dan sulit dieliminasi, sehingga pengobatan menjadi lebih kompleks dan membutuhkan terapi jangka panjang.

Staphylococcus aureus memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan, termasuk dalam hal ketersediaan nutrisi pada media pertumbuhan. Berdasarkan penelitian yang dipublikasikan dalam jurnal *American Society for Microbiology*, bakteri ini mampu tumbuh tidak hanya pada media kaya nutrisi, tetapi juga pada media minimal (*synthetic minimal medium/SMM*) yang hanya mengandung komponen dasar tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa *S. aureus*

memiliki fleksibilitas metabolik yang baik dalam mempertahankan pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya pada kondisi yang terbatas. *Staphylococcus aureus* tetap dapat berlangsung apabila media menyediakan komponen penting seperti sumber karbon (misalnya glukosa), asam amino tertentu seperti arginin, serta mineral yang dibutuhkan untuk metabolisme sel. Kemampuan ini menunjukkan bahwa bakteri dapat mensintesis berbagai komponen penting secara mandiri dan menyesuaikan jalur metabolismenya sesuai dengan kondisi lingkungan.

Dengan demikian, *S. aureus* tidak bergantung sepenuhnya pada media yang kompleks, tetapi tetap dapat berkembang pada media sederhana dengan nutrisi terbatas (Nizet et al., 2019).

E. Naniura

Naniura merupakan salah satu pangan fermentasi tradisional khas masyarakat Batak di Sumatera Utara yang berpotensi menjadi sumber probiotik karena kaya akan Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL merupakan bakteri Gram-positif yang memfermentasi karbohidrat melalui proses fermentasi menjadi asam laktat serta memberikan berbagai manfaat kesehatan, khususnya dalam menjaga kesehatan sistem pencernaan. Naniura dibuat dari ikan mas segar tanpa proses pemasakan, melainkan direndam dalam larutan asam, seperti air jeruk atau asam jawa, sehingga pH menurun, pertumbuhan bakteri pembusuk terhambat, dan tekstur ikan menjadi lebih lunak. Penambahan rempah, seperti bawang merah, bawang putih, jahe, kunyit, dan lengkuas, memperkaya cita rasa khas sekaligus menambah sifat antimikroba alami. Kualitas naniura dipengaruhi oleh jenis sumber asam dan lama perendaman yang menentukan rasa, aroma, serta tekstur produk. Selama proses pengolahan juga terjadi pertumbuhan alami BAL, seperti *Lactobacillus* dan *Streptococcus*, yang berperan dalam proses pengawetan sekaligus membantu menghambat mikroba patogen dan mendukung kesehatan saluran pencernaan. (Hang, 2021).

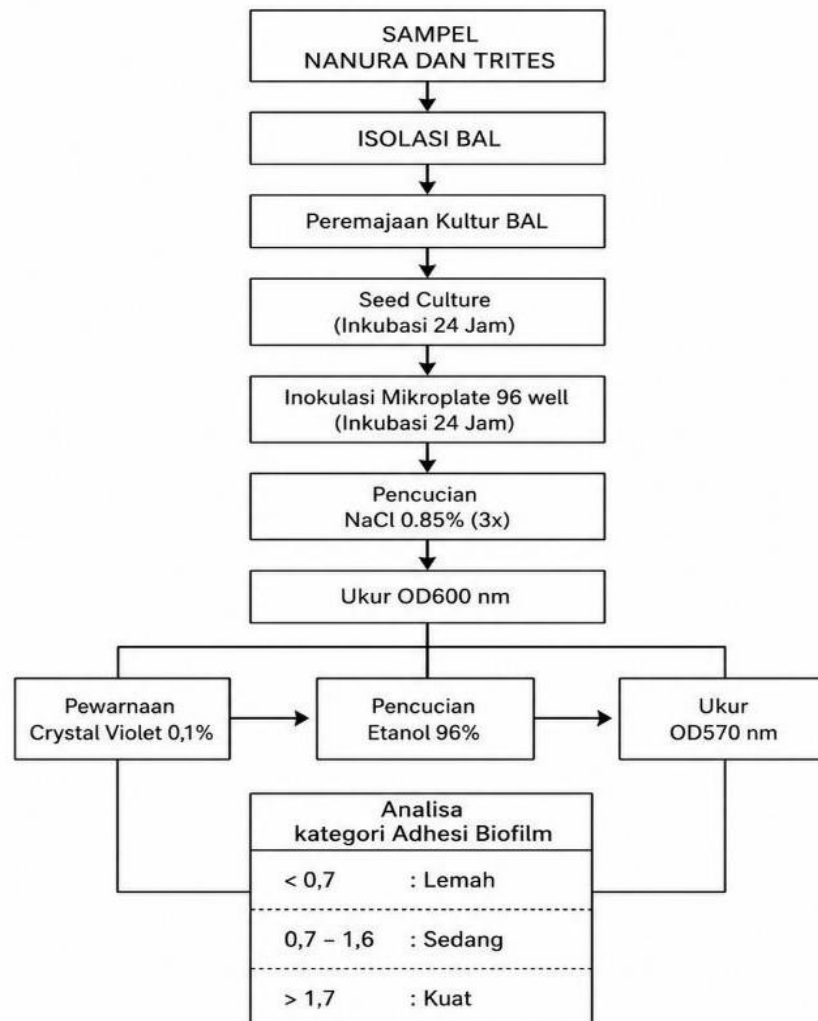
F. Trites

Trites merupakan makanan tradisional khas suku Batak Karo di Sumatera Utara yang dibuat menggunakan sari makanan yang telah dicerna sebagian “chyme” dari lambung sapi sebagai bahan dasar kuah. Kuah tersebut dimasak

bersama daging, sayuran, herba aromatik, dan berbagai rempah khas. Trites umumnya disajikan pada acara adat, seperti pernikahan dan pesta panen, serta dipercaya bermanfaat untuk membantu mengatasi gangguan pencernaan. Keunikan trites juga terlihat dari pemanfaatan berbagai tanaman lokal sebagai bumbu, sehingga menjadi salah satu warisan budaya yang mencerminkan hubungan erat antara kuliner tradisional dan keanekaragaman hayati masyarakat Batak Karo (Sari et al., 2021).

Terites sebenarnya merujuk pada sari rumput yang dicerna sebagian dari rumen ruminansia sari tersebut kemudian disaring menggunakan kain bersih atau saringan. Masyarakat Batak Karo menggunakan filtratnya sebagai kaldu untuk membuat sup tradisional yang dimasak dengan rempah-rempah, herba, dan daging, serta disajikan dalam acara-acara adat. Pagit-pagit adalah nama lain untuk terites. "Pagit" berarti "pahit", yang merujuk pada rasa sup terites. Cairan rumen merupakan bahan organik yang telah dicerna oleh mikroba rumen, cairan rumen sapi mengandung protein (10,56%), vitamin, abu (18,38%), Ca (1,34%), dan P (0,32%) (Purba et al., 2018).

G. Kerangka konsep Penelitian



Gambar 1 Kerangka Konsep Penelitian Uji Biofilm Bakteri Asam Laktat Pada Mekanisme Fermentasi Naniura Dan Trites