

Penentuan Kurva Pertumbuhan *Lactococcus lactis* dan Evaluasi Potensi Supernatan Bebas Sel sebagai Agen Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Gustin Mustika Krista*, Kardian Rinaldi, Andien Tiara Rahma, Azzahra Junisa Maswanti

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung

*E-mail: gustin.mustika@polban.ac.id

Abstract

Article history:

Received: 30-07-2025

Accepted: 13-08-2025

Published: 28-08-2025

keywords:

antibacterial;

bacteriocin;

cell-free supernatant;

L. lactis;

spectroscopy.

The increasing resistance of pathogenic bacteria to synthetic antibiotics has driven the search for safer and more sustainable natural antimicrobial agents. Lactic acid bacteria, particularly *Lactococcus lactis*, are known to produce bioactive compounds such as bacteriocins that can inhibit the growth of pathogenic microorganisms. This study aimed to evaluate the growth profile of *L. lactis*, its antibacterial activity against *Escherichia coli*, and to identify functional groups of active compounds using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. Antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method on MHA plates inoculated with standardized *E. coli* suspensions. The growth curve analysis showed that *L. lactis* entered the lag phase between 0–9 hours, the logarithmic phase from 10–17 hours, and the stationary phase from 18–40 hours. The highest antibacterial activity was observed at 23 hours of incubation, with an inhibition zone diameter of 20 mm against *E. coli*. FTIR analysis of the cell-free supernatant revealed the presence of O–H, C–H, amide I, COO⁻, and C–O functional groups, suggesting the presence of bioactive compounds such as bacteriocins (e.g., nisin), lactic acid, and carbohydrate residues from the fermentation medium. These findings highlight the potential of *L. lactis* as a natural antimicrobial agent and support its further application in functional food development and biopharmaceutical formulations.

1. Pendahuluan

Lactococcus lactis termasuk bakteri asam laktat Gram positif yang banyak digunakan pada industri fermentasi pangan. Statusnya sebagai mikroorganisme yang “Generally Recognized As Safe” (GRAS) turut memperkuat peranannya dalam aplikasi pangan secara luas[1]. Kemampuan *L. lactis* dalam menghasilkan asam laktat secara cepat menjadikannya agen penting dalam proses fermentasi, tidak hanya untuk menciptakan cita rasa, tekstur dan aroma khas, tetapi juga untuk memperpanjang umur simpan produk melalui pengendalian mikroba kontaminan. Bakteri *L. lactis* banyak dimanfaatkan pada produk olahan susu seperti keju, yoghurt dan *buttermilk* [2].

Selain berfungsi sebagai agen fermentasi, *L. lactis* juga mampu memproduksi senyawa antimikroba. Beberapa metabolit penting antimikroba yang dihasilkan antara lain *nisin* Z, sebuah bakteriosin yang telah banyak diteliti, serta *β-sesquiphellandrene*, senyawa terpenoid dengan potensi antimikroba [3, 4]. Kedua senyawa ini memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk, terutama bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Listeria*

monocytogenes, yang menjadi ancaman dalam keamanan pangan.

Potensi antimikroba dari *L. lactis* tersebut dapat dimanfaatkan melalui supernatan bebas sel atau *cell-free supernatant* (CFS) yang mengandung metabolit sekunder hasil fermentasi [5]. Meskipun efektivitas CFS terhadap bakteri Gram-positif telah banyak dilaporkan, namun aktivitasnya terhadap bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli* masih belum banyak dijelaskan[6]. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa CFS *L. lactis* mampu menghambat *E. coli* dalam kondisi tertentu, namun kajian yang mengintegrasikan penentuan kurva pertumbuhan dengan identifikasi gugus fungsi senyawa aktif sebagai dasar optimasi produksi antibakteri masih jarang dilakukan [7, 8].

Kebaruan penelitian ini terletak pada pendekatan terpadu yang mengombinasikan analisis kinetika pertumbuhan *L. lactis*, pengukuran aktivitas antibakteri CFS terhadap *E. coli*, dan karakterisasi kimia menggunakan *Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy* untuk mengungkap keterkaitan antara fase fisiologis dan dinamika biosintesis metabolit bioaktif. Urgensinya didasari oleh meningkatnya resistensi *E. coli* terhadap antibiotik sintetis,

yang mendorong perlunya pengembangan agen antimikroba alami berbasis fermentasi dengan keamanan, efektivitas, dan keberlanjutan yang tinggi [7].

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kurva pertumbuhan *L. lactis* sebagai dasar untuk mengetahui waktu optimum produksi metabolit bioaktif, serta mengevaluasi potensi antimikroba dari CFS *L. lactis* terhadap *E. coli*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan agen antimikroba alami berbasis fermentasi yang aman dan efektif untuk aplikasi dalam industri pangan.

2. Metode

2.1 Mikroorganisme dan Media Kultur

Penelitian ini menggunakan bakteri asam laktat *Lactococcus lactis* sebagai mikroorganisme utama, yang diperoleh dari koleksi kultur di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Negeri Bandung. Sebelum digunakan, kultur *L. lactis* dipelihara dalam medium padat *Man, Rogosa, Sharpe* (MRS) agar dan disimpan pada suhu 4°C untuk menjaga viabilitasnya. Untuk keperluan kultur cair dan fermentasi, digunakan medium kaldu MRS yang telah disiapkan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebagai bakteri uji dalam analisis aktivitas antibakteri, digunakan *Escherichia coli* yang juga diperoleh dari koleksi laboratorium. Kultur *E. coli* dikembangkan dalam medium *Mueller-Hinton Agar* (MHA), yang secara luas digunakan untuk pengujian sensitivitas antimikroba karena sifatnya yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme *non-fastidious* dan tidak mengandung inhibitor aktivitas antibakteri [9].

2.2 Penentuan Kurva Pertumbuhan *Lactococcus Lactis*

Kurva pertumbuhan *L. lactis* ditentukan dengan mengamati dinamika pertumbuhannya selama inkubasi pada suhu 37°C selama 42 jam. Sebanyak dua dose kultur murni diinokulasikan ke dalam 250 mL medium kaldu MRS steril yang ditempatkan dalam erlenmeyer 500 mL. Proses inokulasi dilakukan secara aseptik untuk mencegah kontaminasi. Sampel kultur diambil setiap tiga jam selama periode inkubasi untuk mengamati perubahan kepadatan sel. Setiap sampel kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (OD600). Nilai absorbansi

yang diperoleh digunakan sebagai indikator pertumbuhan sel dan digunakan untuk menyusun kurva pertumbuhan, yang menggambarkan fase lag, fase logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian.

2.3 Isolasi Supernatan Bebas Sel (*Cell-Free Supernatant*)

Isolasi supernatan bebas dari sel bakteri dilakukan dengan pengambilan masing-masing sampel kultur pada berbagai waktu inkubasi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Proses ini dilakukan untuk mengendapkan sel-sel bakteri sehingga diperoleh supernatan jernih yang mengandung metabolit sekunder hasil fermentasi. Supernatan ini selanjutnya dikumpulkan dan disimpan dalam kondisi steril untuk digunakan dalam uji aktivitas antibakteri. Penggunaan suhu dingin selama proses sentrifugasi bertujuan untuk menjaga stabilitas senyawa bioaktif yang mungkin bersifat termolabil [10].

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia Coli*

Uji aktivitas antibakteri dari supernatan bebas sel dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Kertas cakram steril berdiameter 6 mm direndam dalam tiap variasi supernatan selama kurang lebih 15 menit, kemudian diletakkan di atas permukaan cawan petri yang telah mengandung medium MHA dan diinokulasi dengan suspensi *E. coli* yang telah disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 (setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) [11]. Seluruh prosedur dilakukan secara aseptik untuk menghindari kontaminasi.

Cawan-cawan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diamati terbentuknya zona hambat di sekitar cakram. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital. Zona hambat yang terbentuk merupakan indikasi adanya senyawa antibakteri dalam supernatan yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

2.5 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Produksi Senyawa Antibakteri

Waktu inkubasi optimum merupakan waktu ketika aktivitas antibakteri berada pada tingkat tertinggi. Waktu inkubasi dianalisis berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat dari supernatan yang diperoleh pada

berbagai waktu inkubasi. Data ini kemudian diintegrasikan dengan data kurva pertumbuhan untuk mengevaluasi hubungan antara fase pertumbuhan *L. lactis* dengan kemampuan produksinya dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Waktu inkubasi yang menghasilkan zona hambat terbesar dianggap sebagai waktu optimum produksi metabolit antimikroba.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Kurva Pertumbuhan *L.lactis*

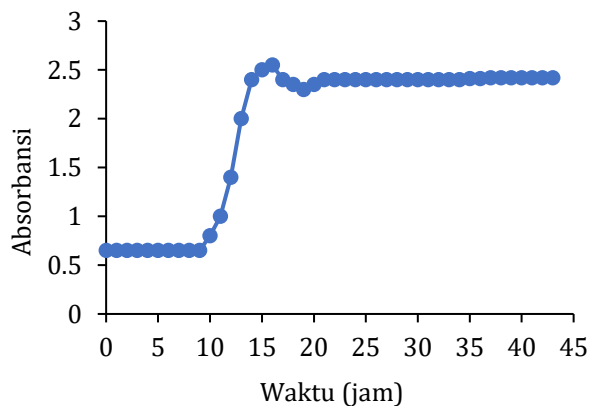
Pertumbuhan mikroorganisme seperti *L. lactis* umumnya mengikuti pola *sigmoid* yang terdiri dari beberapa fase utama: lag, logaritmik, stasioner, dan kematian. Setiap fase menggambarkan dinamika populasi sel dalam merespons kondisi lingkungan dan ketersediaan nutrisi dalam medium. Pengamatan terhadap kurva pertumbuhan menjadi aspek fundamental dalam studi mikrobiologi karena memberikan informasi kritis terkait waktu optimum panen, efisiensi metabolisme, serta potensi produksi senyawa bioaktif selama fase-fase tertentu [12].

Pada penelitian ini, pertumbuhan *L.lactis* dimonitor selama 44 jam dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 600 nm sebagai indikator kepadatan sel. Data yang disajikan merupakan nilai rata-rata dari tiga kali pengulangan percobaan independen ($n = 3$) dan dinyatakan sebagai *mean* \pm *SD* untuk memastikan validitas pengukuran (Gambar 1). Nilai *SD* yang rendah ($< 5\%$ dari nilai *mean* pada setiap titik pengamatan) menunjukkan konsistensi data antar ulangan dan mengindikasikan reliabilitas metode pengukuran kepadatan sel.

Pada fase lag (0-9 jam), tidak terjadi peningkatan OD yang signifikan, yang mengindikasikan bahwa sel berada pada tahap adaptasi terhadap lingkungan baru. Periode adaptasi ini mencakup sintesis enzim metabolik, aktivasi jalur biosintesis, dan penyesuaian membran sel terhadap osmolaritas serta pH media [10]. Durasi fase lag yang relatif panjang dapat dikaitkan dengan kondisi inokulum yang berasal dari fase stasioner, sehingga memerlukan waktu lebih lama untuk mengaktifkan kembali metabolisme pertumbuhan [12].

Fase logaritmik teramati pada jam ke-10 hingga jam ke-17, dengan kenaikan tajam OD dari $\pm 1,0 (\pm 0,02)$ menjadi $\pm 2,6 (\pm 0,03)$. Laju pertumbuhan yang tinggi pada fase ini mencerminkan aktivitas biosintesis

makromolekul yang maksimal, termasuk pembentukan asam laktat sebagai produk utama metabolisme *homofermentatif* [11]. Laju pembelahan yang tinggi juga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi optimal pada media MRS dan kondisi lingkungan yang mendukung, seperti pH awal yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri asam laktat [2].



Gambar 1. Fase pertumbuhan *L. lactis*.

Fase stasioner berlangsung dari jam ke-18 hingga jam ke-40, ditandai dengan OD yang relatif konstan ($\pm 2,5$). Kondisi ini menunjukkan keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dan yang mati, akibat penurunan nutrisi esensial dan akumulasi asam laktat yang menurunkan pH media hingga mendekati batas toleransi pertumbuhan [12]. Menariknya, *L. lactis* tetap mempertahankan viabilitas sel pada fase ini karena kemampuannya menyesuaikan fluiditas membran dan mempertahankan pH intraseluler, yang merupakan karakter adaptif penting pada bakteri asam laktat [13].

Fase kematian, yang secara teoritis mengikuti fase stasioner, tidak tampak jelas hingga jam ke-42 berdasarkan data absorbansi. Tidak terjadi penurunan OD₆₀₀ yang signifikan, yang mengindikasikan bahwa sebagian besar sel masih hidup atau belum mengalami lisis masif [13]. Hal ini dapat disebabkan oleh kemampuan adaptif *L. lactis* dalam mempertahankan integritas membran sel dan aktivitas enzimatisnya pada kondisi stres [14]. Ketiadaan fase kematian yang jelas juga dapat berkorelasi dengan sifat *homofermentatif* *L. lactis*, yang lebih stabil terhadap perubahan lingkungan dibandingkan mikroorganisme lain yang menghasilkan produk metabolit lebih beragam. Selain itu, bentuk kurva yang datar dan stabil setelah jam ke-20 mengindikasikan bahwa sistem telah mencapai keadaan keseimbangan

dinamis, dimana populasi sel bertahan dengan aktivitas metabolik minimal.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa *L. lactis* memiliki profil pertumbuhan yang konsisten dengan karakteristik mikroorganisme asam laktat lainnya, dengan kestabilan fase stasioner yang panjang dan ketahanan terhadap kematian sel pada kondisi kultur yang digunakan.

3.2 Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Aktivitas antibakteri dari *Lactococcus lactis* terhadap *Escherichia coli* dievaluasi melalui pengujian zona hambat menggunakan supernatan bebas sel (*cell-free supernatant*, CFS) yang didapat dari berbagai waktu inkubasi. Hasil pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh pada penelitian ini merupakan nilai tunggal (*single measurement*) untuk setiap titik waktu. Pendekatan ini bertujuan untuk mengidentifikasi titik waktu optimum produksi senyawa antimikroba oleh *L. lactis*, serta mengevaluasi korelasi antara fase pertumbuhan mikroorganisme dengan kemampuan antibakterinya. Data mengenai diameter zona hambat terhadap *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang ditunjukkan oleh zona hambat.

Waktu, jam	Diameter zona inhibisi, mm
15	14
17	14
19	19
21	16
23	20
42	18

Hasil uji menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri mulai terdeteksi pada jam ke-15, dengan zona hambat berdiameter 14 mm. Aktivitas ini tetap konstan hingga jam ke-17, menunjukkan bahwa produksi senyawa antimikroba oleh *L. lactis* pada fase ini masih dalam tahap awal atau bahwa konsentrasi senyawa tersebut belum mencapai ambang efektivitas untuk menghasilkan zona hambat yang lebih besar [7]. Hal ini sesuai dengan sifat bakteriosin yang produksinya biasanya meningkat secara signifikan menjelang akhir fase logaritmik dan awal fase stasioner [15, 16].

Peningkatan drastis aktivitas antibakteri terjadi pada jam ke-19, ditandai dengan kenaikan diameter zona hambat menjadi 19 mm

dari yang sebelumnya 14 mm. Lonjakan ini menunjukkan bahwa biosintesis senyawa antibakteri yang kemungkinan besar berupa bakteriosin seperti nisin telah mencapai tingkat signifikan. Bakteriosin diketahui merupakan metabolit sekunder yang biosintesisnya sering meningkat selama atau menjelang fase stasioner sebagai bagian dari mekanisme kompetitif mikroorganisme untuk mendominasi lingkungan mikrobiologisnya [17, 18]. Dalam konteks ini, *L. lactis* menunjukkan potensi sebagai penghasil senyawa bioaktif yang efektif terhadap bakteri Gram-negatif seperti *E. coli* [19], meskipun secara umum bakteriosin lebih efektif terhadap bakteri Gram-positif.

Zona hambat maksimum tercatat pada jam ke-23, dengan diameter 20 mm. Hal ini menunjukkan bahwa CFS yang diperoleh pada waktu tersebut mengandung konsentrasi tertinggi senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Aktivitas puncak ini sangat signifikan karena menunjukkan waktu optimum panen untuk memperoleh CFS dengan potensi antimikroba maksimal. Pencapaian aktivitas tertinggi dalam rentang waktu 18–24 jam konsisten dengan beberapa studi terdahulu mengenai biosintesis bakteriosin oleh *L. lactis*, yang menunjukkan bahwa ekspresi gen pengkode nisin dan sekresinya meningkat drastis selama awal fase stasioner [15, 16]. Aktivitas ini juga dapat didukung oleh akumulasi metabolit lain seperti asam laktat atau hidrogen peroksida, meskipun pengaruh relatif masing-masing komponen perlu dikaji lebih lanjut melalui karakterisasi kimiawi lanjutan [8].

Setelah mencapai puncak, aktivitas antibakteri menurun pada jam ke-42 menjadi 18 mm. Penurunan ini dapat diatribusikan pada degradasi parsial bakteriosin oleh protease intraseluler, penurunan pH yang ekstrem akibat akumulasi asam organik, atau ketidakstabilan struktur senyawa aktif selama inkubasi berkepanjangan [20]. Mekanisme degradasi ini telah dilaporkan pada beberapa strain *L. lactis*, di mana aktivitas nisin berkurang seiring waktu jika tidak segera dipisahkan dari medium kultur [17, 20].

Korelasi antara aktivitas antibakteri dengan fase pertumbuhan mikroorganisme menunjukkan bahwa fase stasioner awal merupakan titik waktu paling kritis untuk produksi senyawa bioaktif. Fenomena ini memperkuat hipotesis bahwa biosintesis

bakteriosin oleh *L. lactis* bersifat *growth-associated-late* atau *idiophase-associated*, yaitu diproduksi saat laju pertumbuhan melambat namun metabolisme sel masih aktif [19].

Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan potensi *L. lactis* sebagai kandidat penghasil senyawa antimikroba yang efektif dan aplikatif, bahkan terhadap bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*, yang secara struktural relatif lebih resisten terhadap banyak agen antimikroba. Penentuan waktu inkubasi optimum menjadi faktor kunci dalam memastikan aktivitas maksimum dari senyawa tersebut.

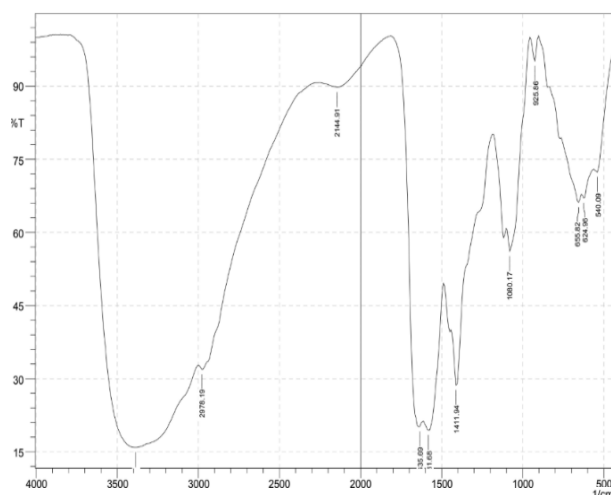
3.3 Analisis FTIR Supernatan Bebas Sel

Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (*Fourier Transform Infrared*, FTIR) merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi molekuler yang banyak digunakan dalam identifikasi gugus fungsi kimia berdasarkan vibrasi karakteristik molekul terhadap radiasi inframerah. FTIR menawarkan pendekatan non-destruktif yang cepat untuk mengevaluasi komposisi kimiawi kompleks seperti supernatan bebas sel (*cell-free supernatant/CFS*) [21]. Analisis ini menjadi relevan dalam konteks mengevaluasi potensi metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme, termasuk bakteriosin, asam organik, dan senyawa polar lainnya.

Pada penelitian ini, spektrum FTIR digunakan untuk menganalisis CFS hasil kultur *L. lactis*, yang sebelumnya menunjukkan aktivitas antibakteri signifikan terhadap *E. coli*. Tujuan dari analisis ini adalah untuk memperoleh indikasi awal mengenai jenis gugus fungsi dan kemungkinan senyawa aktif yang terdapat dalam CFS tersebut. Hasil spektrum FTIR ditampilkan pada Gambar 2 yang menunjukkan beberapa pita serapan karakteristik pada rentang bilangan gelombang 4.000–500 cm^{-1} .

Pita serapan paling kuat diamati pada 3.387,11 cm^{-1} , yang diasosiasikan dengan regangan (*stretching*) ikatan O–H. Pita ini biasanya mencerminkan keberadaan gugus hidroksil dari molekul polar, seperti alkohol atau asam karboksilat [20]. Dalam konteks CFS mikroba, sinyal ini kemungkinan besar berasal dari asam laktat, yang merupakan produk utama dari metabolisme homofermentatif *L. lactis*. Keberadaan gugus hidroksil juga dapat menunjukkan kandungan air atau sisa dari komponen medium yang bersifat hidrofilik, seperti polisakarida atau asam amino bebas.

Gambar 2. Spektrum FTIR supernatan bebas sel *L. lactis*.



Puncak pada 2.978,19 cm^{-1} mengindikasikan regangan C–H alifatik, yang biasanya muncul dari metil ($-\text{CH}_3$) dan metilen ($-\text{CH}_2-$) pada senyawa organik jenuh [22]. Vibrasi ini sering ditemukan dalam struktur protein, lipid, atau residu alifatik dari senyawa peptidik seperti bakteriosin. Dalam hal ini, vibrasi tersebut dapat dihubungkan dengan keberadaan nisin Z, yaitu bakteriosin yang diketahui dihasilkan oleh beberapa strain *L. lactis* [23]. Nisin merupakan lantibiotik berbasis peptida yang mengandung asam amino tidak lazim seperti dehidroalanin dan lanthionin, yang mengandung ikatan C–H spesifik.

Sinyal kuat lainnya terletak pada 1.635,69 cm^{-1} , yang diidentifikasi sebagai pita amida I [24]. Pita ini merupakan penanda utama dari ikatan peptida, yang ditimbulkan oleh vibrasi regangan C=O dari gugus amida. Keberadaan pita ini sangat mendukung hipotesis adanya senyawa peptidik aktif dalam CFS, seperti bakteriosin. Selain itu, pita amida I sering digunakan sebagai parameter struktural dalam karakterisasi sekunder protein dan peptida (misalnya heliks- α atau lembar- β), sehingga keberadaannya dalam spektrum FTIR membuka peluang untuk investigasi lanjutan menggunakan spektroskopi tambahan [25].

Puncak pada 1.411,94 cm^{-1} diinterpretasikan sebagai regangan simetris dari gugus karboksilat (COO^-), yang biasanya muncul dari asam-asam organik seperti asam laktat atau asam asetat [26]. Pita ini penting karena mendukung hasil fermentasi *L. lactis* yang menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama. Sinyal ini juga dapat berasal dari residu

karboksilat dalam struktur protein atau senyawa polar lainnya yang memiliki muatan negatif dalam kondisi fisiologis.

Sementara itu, pita serapan pada 1.080,17 cm^{-1} diasosiasikan dengan regangan ikatan C–O, yang dapat menunjukkan keberadaan gugus alkohol primer atau sekunder, eter, maupun karbohidrat [27]. Sumber potensial dari sinyal ini adalah komponen medium pertumbuhan seperti glukosa, tween, atau oligosakarida dari kaldu MRS sebagai medium pertumbuhan, serta eksopolisakarida (EPS) yang mungkin diproduksi oleh *L. lactis* selama fermentasi. EPS diketahui memiliki peran dalam stabilisasi struktur biofilm, perlindungan terhadap tekanan lingkungan, serta kontribusi terhadap bioaktivitas antimikroba secara tidak langsung [28].

Berdasarkan keseluruhan spektrum, dapat disimpulkan bahwa CFS mengandung gugus-gugus fungsi utama seperti amida, hidroksil, karboksilat, dan C–H alifatik. Pola ini sangat kompatibel dengan kehadiran bakteriosin (misalnya nisin), asam organik (seperti asam laktat), dan kemungkinan komponen sisa dari medium pertumbuhan [29].

Temuan ini memberikan landasan awal untuk menjelaskan potensi mekanisme kerja antibakteri dari CFS *L. lactis*, di mana senyawa peptidik dan asam organik kemungkinan berperan secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme target. Selain itu, keberadaan karbohidrat atau EPS juga patut diperhatikan karena dapat memberikan efek protektif atau memperkuat stabilitas senyawa bioaktif.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa *Lactococcus lactis* menunjukkan pola pertumbuhan khas mikroorganisme, dengan fase lag berlangsung pada 0–9 jam, fase logaritmik pada 10–17 jam, dan fase stasioner pada 18–40 jam. Fase kematian tidak terdeteksi selama periode pengamatan hingga 44 jam, yang mengindikasikan ketahanan sel terhadap kondisi lingkungan yang ada. Supernatan bebas sel (*cell-free supernatant*/CFS) *L. lactis* menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Escherichia coli* pada jam ke-23, yang bertepatan dengan fase awal stasioner. Analisis FTIR terhadap CFS mengungkapkan keberadaan gugus fungsi utama, yaitu O–H, C–H, amida I,

COO⁻, dan C=O, yang menunjukkan kemungkinan kandungan senyawa bioaktif seperti bakteriosin, asam laktat, dan komponen media fermentasi.

Ucapan Terima Kasih

Para penulis dengan hormat menyampaikan terima kasih atas dukungan data dari Politeknik Negeri Bandung. Penelitian ini didukung oleh Pusat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Politeknik Negeri Bandung.

Daftar Pustaka

- [1] De Chiara, I., Marasco, R., Della Gala, M., Fusco, A., Donnarumma, G., & Muscariello, L., 2024. *Probiotic properties of lactococcus lactis strains isolated from natural whey starter cultures*. Foods, Vol. 13, No. 6, p. 957.
- [2] Kondrotiene, K., Zavistanaviciute, P., Aksomaitiene, J., Novoslavskij, A., & Malakauskas, M., 2023. *Lactococcus lactis in dairy fermentation—health-promoting and probiotic properties*. Fermentation, Vol. 10, No. 1, p. 16.
- [3] Siroli, L. et al., 2016. *Use of a nisin-producing lactococcus lactis strain, combined with natural antimicrobials, to improve the safety and shelf-life of minimally processed sliced apples*. Food Microbiology, Vol. 54, pp. 11-19.
- [4] Song, A. A.-L., In, L. L., Lim, S. H. E., & Rahim, R. A., 2017. *A review on lactococcus lactis: From food to factory*. Microbial cell factories, Vol. 16, No. 1, p. 55.
- [5] Silva, C. C., Silva, S. P., & Ribeiro, S. C., 2018. *Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation*. Frontiers in microbiology, Vol. 9, p. 594.
- [6] Yang, S.-C., Lin, C.-H., Sung, C. T., & Fang, J.-Y., 2014. *Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals*. Frontiers in microbiology, Vol. 5, p. 241.
- [7] Navale, V. D., Borade, B. R., Rama Krishna, G., Vamkudoth, K. R., & Kontham, R., 2023. *Metabolites from lactococcus lactis subsp. Lactis: Isolation, structure elucidation, and antimicrobial activity*. ACS omega, Vol. 8, No. 40, pp. 36628-36635.
- [8] Suzuki, A. & Suzuki, M., 2021. *Antimicrobial activity of lactococcus lactis subsp. Lactis isolated from a stranded cuvier's beaked whale (ziphius cavirostris) against gram-*

- positive and-negative bacteria. *Microorganisms*, Vol. 9, No. 2, p. 243.
- [9] Festus, O. & Emmanuella, O., 2020. *Testing the efficacy of mueller hinton agar over nutrient agar for optimal antibiotic sensitivity testing response by selected clinical bacterial pathogens*. *GSC Advanced Research and Reviews*, Vol. 5, No. 2, pp. 61-74.
- [10] Alori, E. T., Onaolapo, A. O., & Ibaba, A. L., 2025. *Cell free supernatant for sustainable crop production*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Vol. 9, p. 1549048.
- [11] Krishnan, M., Dey, D. K., Sharma, C., & Kang, S. C., 2019. *Antibacterial activity of weissella confusa by disc diffusion method*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, Vol. 14, No. 3, pp. 117-122.
- [12] Wei, Q., Pan, X., Li, J., Jia, Z., Fang, T., & Jiang, Y., 2021. *Isolation and molecular identification of the native microflora on flammulina velutipes fruiting bodies and modeling the growth of dominant microbiota (lactococcus lactis)*. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 12, p. 664874.
- [13] Pinto, J. P., Brouwer, R., Zeyniyev, A., Kuipers, O. P., & Kok, J., 2022. *High-resolution chrono-transcriptome of lactococcus lactis reveals that it expresses proteins with adapted size and pi upon acidification and nutrient starvation*. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 88, No. 9, pp. e02476-02421.
- [14] Chen, P., Guo, C., Chen, S., Ye, X., Tan, W., & Chen, J. *Effects of cross-stress on the survival rate of freeze-dried lactic acid bacteria*. Available at SSRN 5036642.
- [15] Zhang, J. *et al.*, 2016. *Enhance nisin yield via improving acid-tolerant capability of lactococcus lactis F44*. *Scientific reports*, Vol. 6, No. 1, p. 27973.
- [16] Moreno, I., Lerayer, A. L., Baldini, V. L., & Leitão, M. F. d. F., 2000. *Characterization of bacteriocins produced by lactococcus lactis strains*. *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol. 31, pp. 183-191.
- [17] Liu, J. *et al.*, 2020. *Nisi maturation and its influence on nisin resistance in lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 86, No. 19, pp. e01306-01320.
- [18] Barman, S., Ghosh, R., & Mandal, N. C., 2018. *Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of lactococcus lactis isolated from homemade buttermilk*. *Annals of Agrarian Science*, Vol. 16, No. 3, pp. 286-296.
- [19] Qiao, W. *et al.*, 2020. *Engineering lactococcus lactis as a multi-stress tolerant biosynthetic chassis by deleting the prophage-related fragment*. *Microbial cell factories*, Vol. 19, No. 1, p. 225.
- [20] Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A., 2020. *Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of lactobacillus plantarum ta4 and its antibacterial and biocompatibility properties*. *Scientific reports*, Vol. 10, No. 1, p. 19996.
- [21] Emmanuel, E. C., Udayashankar, A., & Mishra, J., 2017. *A study on bacteriocin producing lactic acid bacteria with antibacterial and antioxidant properties isolated from plant wastes*. *J. Pure Appl. Microbiol*, Vol. 11, No. 2, pp. 1033-1039.
- [22] Artunduaga-Rojas, A., Flores, M. E., Carrillo, B., Silva-Vera, W., Vargas-Bello-Pérez, E., & Abarca, R. L., 2025. *Breaking the biofilm barrier: Harnessing pva-nisin technology to safeguard dairy products from persistent pathogens*. *CyTA-Journal of Food*, Vol. 23, No. 1, p. 2491448.
- [23] Shiroodi, S. G., Nesaei, S., Ovissipour, M., Al-Qadiri, H. M., Rasco, B., & Sablani, S., 2016. *Biodegradable polymeric films incorporated with nisin: Characterization and efficiency against listeria monocytogenes*. *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 9, No. 6, pp. 958-969.
- [24] Pribic, R., Vanstokkum, I., Chapman, D., Haris, P. I., & Bloemendal, M., 1993. *Protein secondary structure from fourier transform infrared and/or circular dichroism spectra*. *Analytical biochemistry*, Vol. 214, No. 2, pp. 366-378.
- [25] De Meutter, J. & Goormaghtigh, E., 2021. *Ftir imaging of protein microarrays for high throughput secondary structure determination*. *Analytical Chemistry*, Vol. 93, No. 8, pp. 3733-3741.
- [26] Canteri, M. H., Renard, C. M., Le Bourvellec, C., & Bureau, S., 2019. *Atr-ftir spectroscopy to determine cell wall composition: Application on a large diversity of fruits and vegetables*. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 212, pp. 186-196.

- [27] Amer, M. S., Zaghoul, E. H., & Ibrahim, M. I., 2020. *Characterization of exopolysaccharide produced from marine-derived aspergillus terreus sei with prominent biological activities*. Egyptian Journal of Aquatic Research, Vol. 46, No. 4, pp. 363-369.
- [28] Bouzaiene, T. *et al.*, 2024. *Exopolysaccharides from lactiplantibacillus plantarum C7 exhibited antibacterial, antioxidant, anti-enzymatic, and prebiotic activities*. Fermentation, Vol. 10, No. 7, p. 339.
- [29] Pan, D. *et al.*, 2020. *An innovative method to enhance protease tolerance of nisin in endogenous proteases*. Journal of Dairy Science, Vol. 103, No. 4, pp. 3038-3044.