ABSTRAK

PEMENCILAN, PENCIRIAN DAN PENENTUAN AKTIVITI ANTIBAKTERIA BAKTERIA ASID LAKTIK DARIPADA MADU KOMMERSIAL YANG DIPASARKAN DI MALAYSIA

Sebanyak 32 bakteria asid laktik (LAB) telah diasingkan daripada tiga belas sampel madu komersial yang di pasarkan di Malaysia, dan enam strain yang dikenalpasti sebagai *Lactobacillus acidophilus* menggunakan API CHL50. Strain LAB ini telah dinilai aktiviti anti-bakteria terhadap sembilan baketeria patogenik yang tahan rintangan kepada pelbagai antibiotik iaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella sonnei*, *Serretia marcescens* dan *Enterobacter aerogenes*. Dengan menggunakan kaedah overlay agar, garis pusat zon perencatan adalah berbeza diantara bakteria seperti berikut: *Staphylococcus aureus* 25 hingga 32 mm, *Staphylococcus epidermis*. 14 hingga 22 mm, *B. subtillus* 12 hingga 19 mm, *Salmonella typhimurium* 23 hingga 30 mm, *Escherichia coli* 7 hingga 18 mm, *Klebsiella pneumoniae* 13.5 hingga 21.5, *Shigella sonnei* 9 hingga 22, *Serretia marcescens* 7.5 hingga 18 dan *Enterobacter aerogenes* 10 hingga 18 mm, selepas 24 jam pengeraman pada 30 °C. Kesan suhu, enzim proteolitik dan pH terhadap aktiviti antibakteria telah di niali pada supernatan LAB menggunakan plat microtiter. Supernatan LAB didapati stabil pada 90 °C dan 121°C selama satu jam. Rawatan dengan proteinase K dan RNase II mengekalkan aktiviti antimikrob semua supernatan kecuali H006-A dari madu Libya dan H010-G dari madu New Zealannd. Kesan pH pada supernatan menunjukkan hasil yang berbeza. Semua supernatan menunjukkan aktiviti antimikrob terhadap bakteria sasaran pada pH 3 dan pH 5 tetapi tidak pada pH 6, kecuali terhadap *E. aerogenes* dalam tempoh 48 jam pengeraman pada 30 °C. *S. aureus* tidak dihalang oleh supernatan H006-A yang diasingkan daripada madu Libya dan H008-D daripada madu Malaysia pada pH 5, berbanding dengan supernatan daripada lain-lain. Hasil dari kaedah PCR untuk mengenalpasti LAB menujukkan semua strain tidak boleh ditentukan sebagai bakteria terkultur. Sebanyal lapan primers telah digunakan untuk RAPD dan primer P69 boleh

UNIVERSITI SAINS ISLAM MALAYSIA
ISLAMIC SCIENCE UNIVERSITY OF MALAYSIA

mengdiskriminasi enam strain dengan baik. Keputusan dari RAPD menunjukkan bahawa strain bakteria *Lactobacillus acidophilus* dari madu adalah berbeza di antara satu sama lain bergantung kepada sumber madu.

UNIVERSITI SAINS ISLAM MALAYSIA
جامعة العلوم الإسلامية الماليزية
ISLAMIC SCIENCE UNIVERSITY OF MALAYSIA

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA FROM COMMERCIAL HONEY MARKETED IN MALAYSIA

A total of 32 lactic acid bacteria (LAB) were isolated from 13 honey samples commercially marketed in Malaysia, and six strains identified as *Lactobacillus acidophilus* by API CHL50 were evaluated for their antibacterial activities against multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Serretia marcescens* and *Enterobacter aerogenes*. Using the overlay agar method the inhibition zone varies with target bacteria which were *S. aureus* 25 to 32 mm, *Staphylococcus epidermis* 14 to 22 mm, *Bacillus subtilis* 12 to 19 mm, *Salmonella typhimurium* 23 to 30 mm, *E. coli* 7 to 18 mm, *Klebsiella pneumoniae* 13.5 to 21.5 mm, *S. sonnei* 9 to 22 mm, *Serretia marcescens* 7.5 to 18 mm and *E. aerogenes* 10 to 18 mm after 24 h incubation at 30 °C. The effects of temperature, protolithic enzymes and pH on the antibacterial activity of the supernatants were evaluated. The supernatant was heat stable at 90 °C and 121°C for 1 h. Treatment with proteinase K and RNase II maintained the antimicrobial activity of all the supernatants except H006-A from Libyan honey and H010-G from New Zealand honey. All the supernatants showed antimicrobial activities against target bacteria at pH 3 and pH 5 but not at pH 6 except against *Enterobacter aerogenes* within 48 h incubation at 30 °C. *Staphylococcus aureus* was not inhibited by H006-A isolated from Libyan honey and H008-D isolated from Malaysian honey at pH 5, compared to supernatants from other *L. acidophilus* isolates. Results from PCR identified LAB isolates as uncultured bacteria. Eight primers were used for RAPD and primer P69 highly discriminated the six isolates. The results from RAPD suggested that the strains of *Lactobacillus acidophilus* were different from each other depending on the source of honey.

UNIVERSITI SAINS ISLAM MALAYSIA
ISLAMIC SCIENCE UNIVERSITY OF MALAYSIA

ملخص

عزل، تصنيف والفعالية المضادة للبكتيريا لبكتيريا حامظ اللاكتيك المعزولة من العسل المباع في ماليزيا

اثنان وثلاثون بكتيريا حامض اللاكتيك عزلت من العسل المباع في ماليزيا، 6 عزلات من البكتيريا صنفت ك لاكتوباسيللس اسيدوفلس (*Lactobacillus acidophilus*) باستخدام API CHL50 واختبرت فعاليتها المضادة للبكتيريا ضد مضادات المضادات الحيوية من *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *S. marcescens* and *Enterobacter aerogenes*. باستخدم طريقة overlay agar الهاله حول البكتيريا المعزولة من العسل مع البكتيريا المضادة كالتالي: *S. aureus* (25 to 32) ، *S. epidermis* (14 to 22)، *B. subtillus* (12 to 19)، *S. typhimurium* (23 to 30)، *E. coli* (7 to 18)، *K. pneumoniae* (13.5 to 21.5)، *S. sonnei* (9 to 22)، *S. marcescens* (7.5 to 18)، و *E. aerogenes* (10 to 18) بعد فترة حضانة 24 ساعة عند 30 م°. تأثير الحرارة، المعالجة بالأنزيمات و الحموضة (ph) على النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص بكتيريا حامض اللاكتيك (supernatant) قيمت. مستخلص البكتيريا كان مضاد للحرارة عند 90 و121 م°. المعالجة مع البروتينيز ك (proteinase K) و رانيز2 (RNase II) مزالت كل المستخلصات محتفظة بتأثيرها المضاد للبكتيريا ماعدا H006-A من العسل الليبي و H010-G من العسل النيوزيلاندي. كل المستخلصات ابدت تأثير مضاد للبكتيريا عند درجة الحموضة (ph) 3 و 5 ولكن فقدت التأثير عند درجة 6 لمدة 48 ساعة من الحضانة عدة 30 م°. *S. aureus* لم تثبط من قبل H006-A من العسل الليبي وH008-D من العسل الماليزي عند درجة حموضة 5 مقارنة مع المستخلصات الأخرى. النتائج باستخدام PCR كانت بكتيريا غير معرفة. تمانية primers استخدمت في RAPD و P69 هو الدي ميز العزلات السته عن بعضها. النتائج من RAPD وضحت ان العزلات مختلفة عن بعضها باختلاف مصدر العسل.

UNIVERSITI SAINS ISLAM MALAYSIA
ISLAMIC SCIENCE UNIVERSITY OF MALAYSIA