

ARTIKEL

PEMANFAATAN SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ASAM LAKTAT PADA *Escherichia coli* DAN UMUR SIMPAN SAYURAN SEGAR

[*Utilization of Lactic Acid Bacteria Cell-Free Supernatant on Escherichia coli and Shelf Life of Fresh Vegetables*]

Septiyani¹, Stella Magdalena^{1*}, Yogiara²

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknobiologi, Kampus BSD, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Banten 15345, Indonesia.

²Program Studi Magister Bioteknologi, Fakultas Teknobiologi, Kampus Semanggi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta 12930, Indonesia.

ABSTRAK

Selada dan kubis merupakan sayuran yang rentan kerusakan akibat bakteri *E. coli*. *E. coli* mampu menyebabkan diare pada manusia jika sayuran dikonsumsi secara mentah. Aplikasi supernatan bakteri asam laktat (BAL) pada kubis dan selada menjadi salah satu solusi untuk mengatasi kedua masalah tersebut. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengevaluasi penggunaan supernatan bebas sel BAL dalam mereduksi *E. coli* untuk menghambat kerusakan pada sayuran segar. Supernatan TL7 dan H1 disemprotkan pada kubis dan selada; disimpan pada suhu 25 °C dan 10 °C dan dilakukan pengamatan pada hari 1, 5, dan 7. Pada suhu 25 °C, selada berubah warna menjadi hijau tua, tekstur melunak, serta tumbuh kapang sedangkan kubis berubah warna menjadi kehitaman. Pada suhu 10 °C, selada dan kubis tidak berubah warna dan tekstur. Aplikasi supernatan bebas sel kedua isolat pada selada dan kubis yang disimpan pada suhu 25 °C dan 10 °C mampu menghambat *E. coli* hingga penyimpanan hari ketujuh dengan kisaran 0,4 log CFU/g – 1,9 log CFU/g. Kombinasi penambahan supernatan isolat BAL dan penyimpanan pada suhu 10 °C memiliki kemampuan menghambat *E. coli* secara nyata hingga penyimpanan hari ketujuh dibandingkan perlakuan *E. coli* saja pada semua perlakuan.

Kata kunci: antibakteri, bakteri asam laktat, sayuran segar, supernatan bebas sel, umur simpan

ABSTRACT

Lettuce and cabbage are vulnerable vegetables to damage caused by E. coli. E. coli can cause diarrhea in humans when consume contaminated raw vegetables. Applying lactic acid bacteria (LAB) supernatant to cabbage and lettuce is one solution to overcome both issues. This research aims to evaluate the usage of LAB cell-free supernatant in reducing E. coli and inhibiting damage to fresh vegetables. TL7 and H1 supernatants were sprayed on cabbage and lettuce and stored at 25 °C and 10 °C, and observations were made on days 1, 5, and 7. At 25 °C, the lettuce changed color to dark green and softened in texture, and mold grew while the cabbage turned black. At 10 °C, neither lettuce nor cabbage changed color or texture. Applying the cell-free supernatant of both isolates to lettuce and cabbage stored at 25 °C and 10 °C inhibited E. coli until the seventh day of storage, with a range of 0.4 log CFU/g – 1.9 log CFU/g. The combination of adding LAB isolates and storage 10 °C could significantly inhibit E. coli up to the seventh day of storage compared to the treatment with E. coli alone in all treatments.

Keywords: antibacterial, lactic acid bacteria, fresh vegetables, cell-free supernatant, shelf life

PENDAHULUAN

Kubis (*Brassica oleraceae* var. *capitata* f. *alba*) dan selada (*Lactuca sativa*) merupakan komoditas pertanian yang memiliki tingkat produksi cukup tinggi dan diminati oleh konsumen. Produksi kubis di Indonesia pada tahun 2023 mencapai hingga 61.932 hektar (BPS 2024). Di sisi lain, kubis dan selada juga termasuk komoditas pertanian yang rentan rusak. Kerusakan kubis dan selada dapat dilihat dari penurunan kualitas fisik, seperti terjadinya perubahan warna, munculnya luka, layu, hingga pembusukan (Al-Dairi *et al.*, 2022).

Berdasarkan data yang diperoleh Badan Pusat Statistik (2023), produksi kubis menurun pada daerah Papua, Bali, Sumatera Barat, dan Sulawesi Tengah dengan rata-rata penurunan sebesar 6,76 ton atau sebesar 25% pada tahun 2022 dibandingkan dengan produksi kubis pada tahun 2021. Menurut Petruzzi *et al.*, (2017), kerusakan kubis dan selada tersebut dipengaruhi oleh mikroba pembusuk sehingga berpengaruh terhadap karakteristik fisik yang dimilikinya.

Salah satu mikroba pembusuk yang terdapat pada kubis dan selada yaitu *Escherichia coli* (Lee *et al.*, 2021). Walaupun *E. coli* merupakan salah satu bakteri yang terdapat pada pencernaan manusia, tetapi *E. coli* dengan jumlah populasi yang tinggi dari lingkungan, termasuk sayuran dan buah segar dapat mengakibatkan penyakit diare pada manusia (Martinson dan Walk 2020). Di sisi lain, kubis dan selada termasuk ke dalam bahan pangan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat tanpa diolah sehingga memerlukan perhatian khusus untuk mencegah timbulnya penyakit, khususnya diare pada manusia (Hutasoit 2020). Oleh karena itu, untuk mereduksi jumlah *E. coli* pada kubis dan selada, perlakuan fisik dan kimiawi dapat diberikan, seperti *bleaching*, pemberian tekanan tinggi atau arus listrik, dan penggunaan klorin atau asam organik banyak digunakan.

Solusi alternatif lain yang dapat diberikan dalam menjaga kualitas sayuran yaitu dengan mengaplikasikan bakteri asam laktat (BAL) pada kubis dan selada. Menurut Hidayatulloh *et al.*, (2019), BAL yang diberikan pada bahan pangan asal hewan seperti daging dan susu mampu menghasilkan produk metabolit, seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang bersifat antimikrob sehingga mampu memperpanjang umur simpan bahan pangan. Berdasarkan penelitian Cálix-Lara *et al.*, (2014), supernatan bebas sel isolat BAL yang diaplikasikan pada sayur bayam segar mampu mereduksi populasi *E. coli* dan *Salmonella enterica*; sementara pada penelitian Yin *et al.*, (2022), supernatan bebas sel isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* dan *Listeria innocua* pada melon setelah tujuh hari penyimpanan.

Penelitian ini menggunakan isolat BAL yang diisolasi dari oncom, tempe, dan madu yang merupakan pangan fermentasi tradisional Indonesia. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengevaluasi potensi pemanfaatan supernatan bebas sel isolat BAL dalam mereduksi pertumbuhan *E. coli* sebagai penghambat kerusakan pada sayuran segar.

BAHAN DAN METODE

Tahapan penelitian meliputi preparasi kultur bakteri asam laktat (BAL), penapisan antibakteri terhadap *E. coli*, pembuatan kurva pertumbuhan isolat BAL, produksi supernatan bebas sel isolat BAL, penentuan aktivitas antibakteri pada variasi fase pertumbuhan, sterilisasi sayuran segar, kontaminasi buatan sayuran segar dengan *E. coli*, inokulasi supernatan bebas sel pada sayuran segar, karakterisasi sayuran segar secara kualitatif, dan penghitungan jumlah total *E. coli*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kubis (*Brassica oleraceae* var. *capitata* f. *alba*), selada (*Lactuca sativa*), isolat BAL, deMan Rogosa Sharpe (MRS) agar dan *broth* (Oxoid), media *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), media *Tryptic Soy Broth* (Oxoid), media *Eosin Methylene Blue* (EMB) agar (Oxoid), dan cakram antibiotik *Chloramphenicol*.

Preparasi Kultur Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pada penelitian ini, sebanyak tiga puluh delapan isolat BAL yang diisolasi dari oncom, tempe, dan madu diinokulasi pada media deMan Rogosa Sharpe (MRS) agar dengan suplementasi 0,3% CaCO₃ (b/v) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam dalam keadaan anaerob. Isolat dengan zona bening di sekitar koloni diinokulasi kembali pada media MRS agar (Yin *et al.*, 2022).

Penapisan Antibakteri terhadap *E. coli*

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur. Masing-masing isolat diinokulasi pada media MRS *broth* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Setelah itu, masing-masing suspensi disentrifugasi pada kecepatan 2.377 x g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan difiltrasi dengan menggunakan *microfilter* berukuran 0,22 µm.

Bakteri *E. coli* ATCC 25922 digunakan sebagai bakteri patogen untuk mengetahui aktivitas antibakteri BAL. Isolat *E. coli* yang telah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* dibuat menjadi suspensi ($OD_{600} = 0,132$) untuk diinokulasi kembali pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan teknik goresan radian. Media MHA dilubangi dengan menggunakan *cork borer* steril berukuran 6 mm. Masing-masing supernatan BAL sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam lubang. Media MHA diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pada tahap ini pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali. Antibiotik *Chloramphenicol* (30 µg) digunakan sebagai kontrol positif dan media MRS *broth* sebagai kontrol negatif. Isolat dengan hasil positif berupa zona bening yang terbentuk di sekitar sumur diukur dalam satuan mm dan dilanjutkan dalam tahap pembuatan kurva pertumbuhan BAL.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat BAL

Sebanyak 1 loop isolat BAL ditumbuhkan pada media MRS *broth* sebanyak 20 mL yang kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Setelah itu, setiap kultur isolat BAL sebanyak 20 µL ($OD_{600} = 0,5$) ditambahkan pada media MRS *broth* dengan volume 200 µL pada 96-well *microplate* untuk dibaca dengan *microplate reader*. Pembacaan dilakukan setiap rentang waktu 2 jam pada panjang gelombang 600 nm pada suhu 37 °C selama 48 jam dengan jumlah ulangan sebanyak tiga kali (Yang *et al.*, 2018). Pada tahap ini, kurva pertumbuhan setiap isolat BAL dibuat dan ditentukan periode waktu pertumbuhan fase log dan fase stasioner.

Produksi Supernatan Bebas Sel Isolat BAL

Berdasarkan George-Okafor *et al.*, (2020) dan Choi *et al.*, (2021) dengan modifikasi, isolat BAL diinokulasi pada media MRS *broth* dan diinkubasi pada suhu 37 °C hingga mencapai fase log dan stasioner yang ditentukan pada tahap pembuatan kurva pertumbuhan BAL. Setelah itu, sebanyak 20 mL kultur BAL dimasukkan ke dalam *conical tube* 50 mL dan disentrifugasi pada kecepatan 2.377 x g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan difiltrasi dengan menggunakan *microfilter* berukuran 0,22 µm. Hasil filtrasi digunakan untuk uji antibakteri.

Penentuan Aktivitas Antibakteri pada Variasi Fase Pertumbuhan

Pada uji antibakteri yang diadaptasi dari Almohammadi *et al.*, (2022), metode yang digunakan berupa metode difusi sumur. Bakteri *E. coli* ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Elbing dan Brent 2019). Setelah itu, bakteri *E. coli* dibuat menjadi suspensi dengan menambahkan garam fisiologis 0,85% dan diukur hingga mencapai $OD_{600} = 0,132$. Sebanyak 100 µL kultur *E. coli* dipipet pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan digores menggunakan penggores kapas steril. Setiap media MHA dilubangi dengan menggunakan *cork borer* steril dengan diameter 6 mm. Sebanyak 100 µL masing-masing supernatan bebas sel BAL dimasukkan ke dalam lubang (Shehata *et al.*, 2020). Pada tahap ini, antibiotik *Chloramphenicol* (30 µg) digunakan sebagai kontrol positif dan media MRS *broth* sebagai kontrol negatif. Media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar lubang diukur diameternya. Zona bening dengan diameter terpanjang antara fase log dan stasioner dipilih untuk diaplikasikan pada pengujian supernatan bebas sel isolat BAL pada sayuran segar.

Pengulangan tahap ini dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap fase pada masing-masing isolat. Data diameter zona bening kedua isolat dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS. Pertama, data yang ada diuji normalitas yang homogenitasnya kemudian dilanjutkan dengan uji *independent T-test*.

Sterilisasi Sayuran Segar

Metode yang digunakan mengacu pada Dewanggana *et al.*, (2022) yaitu metode perlakuan UV. Sampel sayuran segar yang digunakan yaitu berupa kubis dan selada yang dibeli di Pasar Modern Intermoda, BSD. Beberapa lembar dari masing-masing sayuran diambil dan dicuci dengan menggunakan air mengalir. Masing-masing lembar sayur dipotong dengan ukuran 5 cm x 5 cm. Setiap potongan sampel diletakkan pada cawan petri steril. Setiap cawan petri dikondisikan terbuka pada *laminar air flow* dan disterilisasi dengan UV selama 40 menit dengan masing-masing sisi selama 20 menit dengan tujuan mengeliminasi mikroorganisme alami yang terdapat pada sayuran.

Kontaminasi Buatan Sayuran Segar dengan *E. coli*

Preparasi *E. coli* mengacu pada metode Choi *et al.*, (2021), preparasi dilakukan dengan menggunakan media *Tryptic Soy Broth* (TSB) sebanyak 50 mL. Bakteri *E. coli* sebanyak satu loop diinokulasikan pada media TSB dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil yang terbentuk disentrifugasi pada kecepatan 2.377 x g selama 15 menit. Pelet yang terbentuk dibilas dengan garam fisiologis 0,85% kemudian pelet diresuspensi kembali dengan garam fisiologis 0,85% sebanyak 50 mL sehingga terbentuk konsentrasi suspensi sebesar 9 log CFU/mL ($OD_{600} = 1$).

Sampel kubis dan selada yang sudah steril disemprotkan dengan suspensi *E. coli* sebanyak 1 mL pada kedua sisi permukaan sayur. Setelah itu, sampel sayur didiamkan pada suhu ruang di dalam *laminar air flow* selama kisaran tiga puluh menit sampai satu jam hingga mengering (Tanjaya 2023).

Inokulasi Supernatan Bebas Sel Pada Sayuran Segar

Selada dan kubis yang telah dikontaminasi dengan *E. coli* akan dibuat dengan tiga perlakuan. Perlakuan pertama yaitu sampel yang sudah disterilisasi tanpa kontaminasi buatan dan tanpa inokulasi supernatan BAL. Perlakuan kedua yaitu sampel yang hanya diinokulasi buatan suspensi bakteri *E. coli*. Perlakuan ketiga yaitu sampel diinokulasi buatan suspensi bakteri *E. coli* serta disemprotkan masing-masing supernatan bebas sel isolat BAL yang berbeda. Masing-masing sampel disemprotkan dengan supernatan bebas sel isolat BAL sebanyak 1 mL pada seluruh bagian permukaan sampel dan dikeringkan dengan udara pada *laminar air flow* selama 20 menit (Yin *et al.*, 2022). Pada tahap ini, pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing perlakuan sampel.

Karakterisasi Sayuran Segar Secara Kualitatif

Sampel kubis dan selada dengan tiga perlakuan tersebut disimpan pada suhu 25 °C dan 10 °C selama 1 minggu dan diamati pada hari ke-1, 5, dan 7. Pengamatan dilakukan berdasarkan karakteristik fisik, seperti yang dilakukan oleh Garande *et al.*, (2019) dengan parameter berupa warna, tekstur, dan visual kesegaran.

Penghitungan Jumlah Total *E. coli*

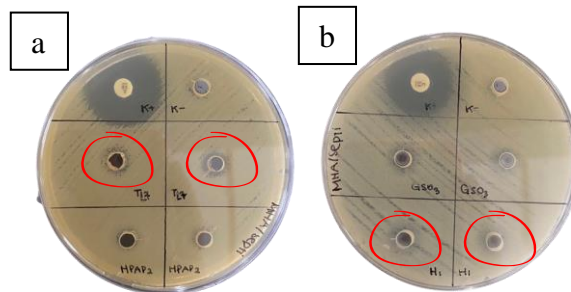
Penghitungan jumlah koloni *E. coli* dilakukan dengan cara sampel dihomogenisasi ke dalam TSB sebanyak 47,5 mL. Sampel dihomogenisasi dengan menggunakan *stomacher* selama 90 detik pada kecepatan 4. Setelah itu, sampel dilakukan pengenceran bertingkat hingga mencapai 10^{-5} . Masing-masing pengenceran disebar pada media *Eosin Methylene Blue* (EMB) agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk pada media EMB dengan karakterisasi koloni hijau metalik dihitung dalam satuan *colony forming unit* (CFU) per gram sampel (Tanjaya 2023).

Data yang didapatkan dalam satuan CFU dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS. Pada tahap pertama, data yang ada diuji homogenitas dan normalitasnya. Setelah itu, data yang ada diuji dengan menggunakan uji ANOVA dua arah untuk mengetahui interaksi antar suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan. Terakhir, data yang dihasilkan dilanjutkan dengan menggunakan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan yang signifikan atau tidak antar perlakuan.

HASIL

Penapisan Antibakteri terhadap *E. coli*

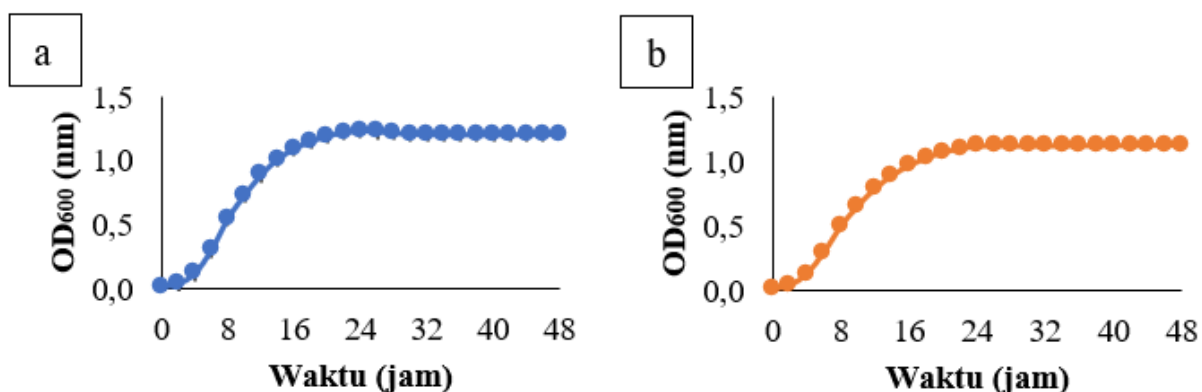
Pada tahap ini, hanya dua isolat BAL memiliki hasil positif yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar lubang, yaitu isolat *Lactiplantibacillus plantarum* TL7 dan isolat H1 yang belum diidentifikasi secara molekuler (Gambar 1). Selanjutnya, kedua isolat digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan isolat BAL.



Gambar 1. Hasil positif uji antibakteri berupa zona bening di sekitar (a) isolat TL7 dan (b) isolat H1. (*Positive results of antibacterial assay in the form of clear zones around (a) isolate TL7 and (b) isolate H1*).

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat BAL

Pada tahap ini, kedua isolat BAL menunjukkan pertumbuhan pada fase log yaitu pada jam ke-4 hingga ke-20 sedangkan pada fase stasioner pada jam ke-20 hingga ke-48 (Gambar 2). Untuk tahap selanjutnya, supernatan BAL diinkubasi hingga jam ke-16 untuk fase log dan jam ke-40 untuk fase stasioner.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat BAL setelah diinkubasi selama 48 jam. (a) Isolat TL 7, (b) Isolat H1. (*Growth curve of BAL isolates after 48 hours of incubation. (a) Isolate TL7, (b) Isolate H1*).

Penentuan Aktivitas Antibakteri pada Variasi Fase Pertumbuhan

Berdasarkan Tabel 2, hasil yang ada menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada aktivitas antibakteri antara fase log dan fase stasioner pada masing-masing isolat.

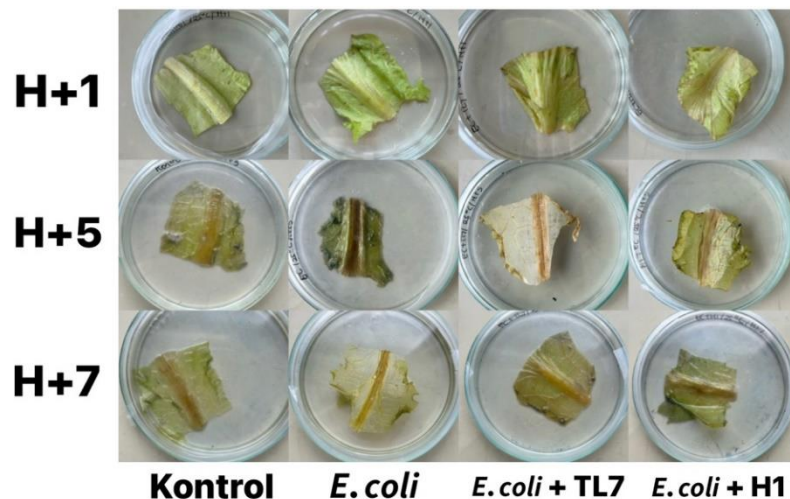
Tabel 2. Diameter zona hambat supernatan bebas sel isolat BAL terhadap *E. coli*. (The diameter of the inhibition zone of cell-free supernatant from LAB isolates against *E. coli*).

| Perlakuan (Treatment) | Diameter zona hambat (mm) (Diameter of inhibition zone (mm)) | |
|--|---|--------------------------------------|
| | Fase Log (Log Phase) | Fase Stasioner (Stationary Phase) |
| | Rata-rata ± SD* (Mean ± SD*) | Rata-rata ± SD* (Mean ± SD*) |
| TL7 | 9,56 ± 1,33 | 10,33 ± 1,22 |
| H1 | 8,89 ± 1,05 | 9,89 ± 0,60 |
| Kontrol + (Chloramphenicol) (Control + (Chloramphenicol)) | 29,50 ± 0,84 | 27,00 ± 3,16 |

*SD: Standar Deviasi (*SD: Standard Deviation)

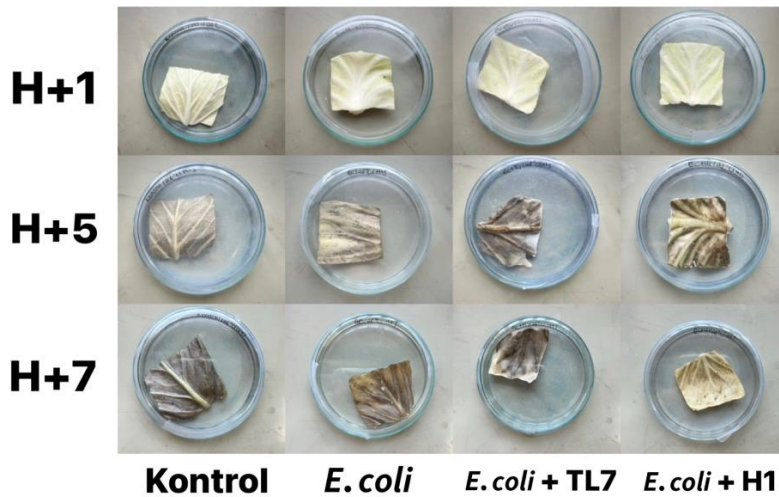
Karakterisasi Sayuran Segar Secara Kualitatif

Karakteristik fisik kedua sayur memiliki penampakan yang berbeda. Pada suhu 25 °C, selada memiliki warna hijau muda dengan kesegaran yang baik hingga pengamatan hari pertama. Selanjutnya, warna pada selada akan semakin memucat dan kesegaran semakin menurun pada hari kelima. Selain itu, setelah penyimpanan selama lima hari tumbuh kapang untuk perlakuan kontrol, *E. coli*, dan *E. coli* + TL7. Pada pengamatan hari ketujuh, kesegaran selada semakin menurun serta tekstur yang dimiliki selada semakin melunak (Gambar 3).



Gambar 3. Penampakan fisik selada dengan perlakuan dan kontrol penyimpanan suhu 25 °C pada hari 1,5, dan 7. Semua perlakuan mengalami perubahan warna, tekstur, dan kesegaran. (Physical appearance of lettuce with treatment and control stored at 25°C on days 1, 5, and 7. All treatments showed changes in color, texture, and freshness).

Pada suhu 25 °C, sayur kubis memiliki penampakan fisik yang berbeda dengan selada. Pada pengamatan hari pertama, sayur kubis memiliki warna putih dan kesegaran yang baik. Pada pengamatan hari kelima, sayur kubis memiliki warna hitam pada permukaannya, tetapi tekstur yang dimiliki masih tidak berubah. Warna hitam dan tekstur sayur kubis tersebut bertahan hingga penyimpanan hari ketujuh untuk semua perlakuan (Gambar 4).



Gambar 4. Penampakan fisik kubis dengan perlakuan dan kontrol penyimpanan suhu 25 °C pada hari 1,5, dan 7. Semua perlakuan hanya mengalami perubahan pada warna dan tekstur. (*Physical appearance of cabbage with treatment and control stored at 25°C on days 1, 5, and 7. All treatments only showed changes in color and texture*).

Pada penyimpanan suhu 10 °C, selada dan kubis memiliki penampakan fisik yang lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu 25 °C. Pada pengamatan hari pertama, sayur selada memiliki warna hijau muda, tingkat kesegaran, serta tekstur yang cukup baik. Seiring dengan berjalannya waktu, pada pengamatan hari ketujuh, sayur selada yang disemprotkan supernatan BAL memiliki warna hijau yang sedikit lebih pucat dan tekstur yang lebih layu jika dibandingkan dengan kontrol. Namun, tidak ada kapang yang tumbuh pada permukaan selada untuk semua perlakuan (Gambar 5). Untuk sayur kubis, warna putih dengan tingkat kesegaran dan tekstur yang tidak berubah untuk semua perlakuan pada pengamatan hari pertama hingga hari ketujuh (Gambar 6).



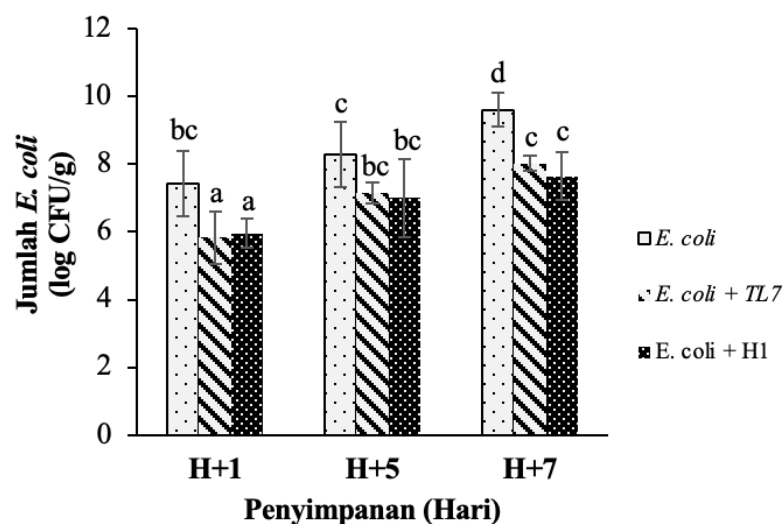
Gambar 5. Penampakan fisik selada dengan perlakuan dan kontrol penyimpanan suhu 10 °C pada hari 1, 5, dan 7. Semua perlakuan memiliki warna, tekstur, dan tingkat kesegaran yang cukup baik (*Physical appearance of lettuce with treatment and control stored at 10 °C on days 1, 5, and 7. All treatments maintained fairly good color, texture, and freshness*).



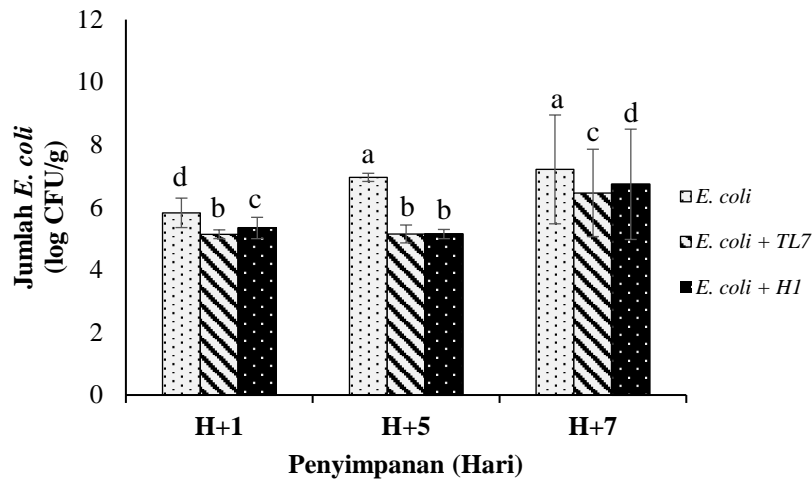
Gambar 6. Penampakan fisik kubis dengan perlakuan dan kontrol penyimpanan suhu 10 °C pada hari 1, 5, dan 7. Semua perlakuan memiliki warna, tekstur, dan tingkat kesegaran yang cukup baik (*Physical appearance of cabbage with treatment and control stored at 10 °C on days 1, 5, and 7. All treatments maintained fairly good color, texture, and freshness*).

Penghitungan Jumlah Total *E. coli*

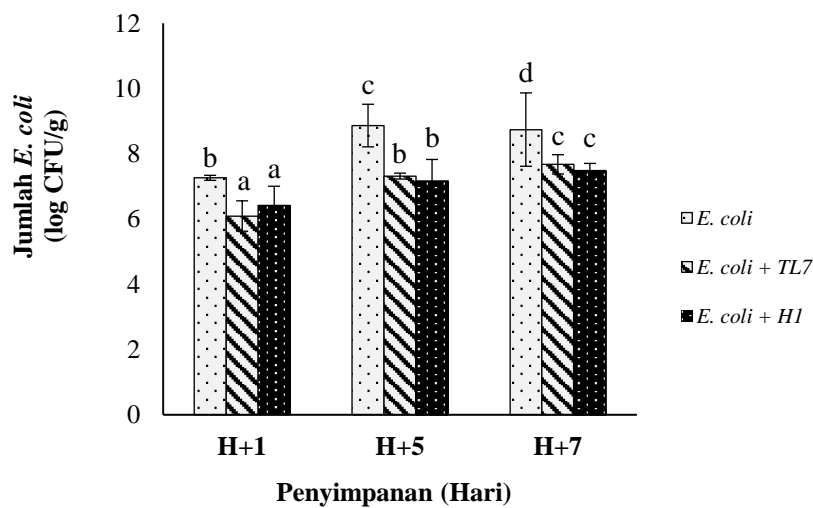
Kedua isolat BAL, TL7 dan H1, tidak memiliki perbedaan yang nyata dalam mereduksi *E. coli* dari hari pertama hingga hari ketujuh penyimpanan (Gambar 7, 9-10), kecuali pada daun selada di penyimpanan hari ke-1 dan 7 pada suhu 10 °C (Gambar 8). Jumlah total *E. coli* pada selada dan kubis yang diaplikasikan supernatan kedua isolat BAL lebih rendah dibandingkan dengan yang hanya diaplikasikan *E. coli* saja. Selain itu, terdapat perbedaan antara selada dan kubis yang disimpan pada perlakuan suhu. Penyimpanan pada suhu 10 °C mampu mendukung untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* pada perlakuan kontrol ataupun dengan penambahan supernatan kedua isolat BAL dibandingkan penyimpanan pada suhu 25 °C.



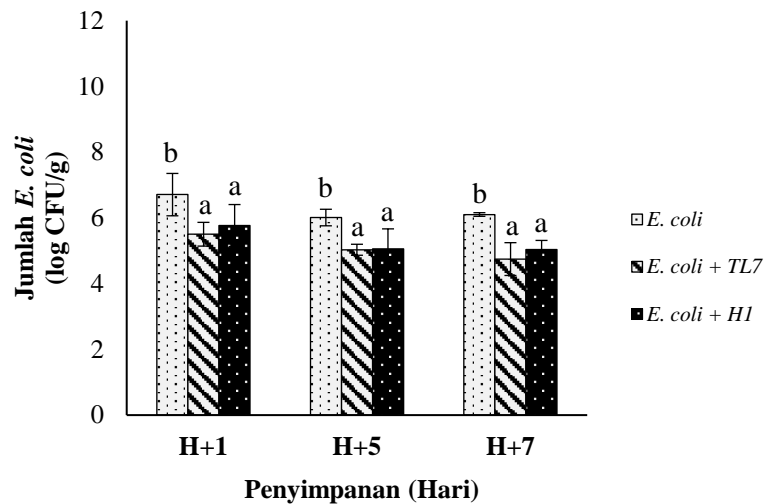
Gambar 7. Pertumbuhan *E. coli* pada selada dengan perlakuan pada penyimpanan suhu 25 °C. Terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan berdasarkan waktu penyimpanan ($p < 0,05$). (*The growth of E. coli on lettuce with treatment stored at 25 °C. There were significant differences between treatments based on storage time ($p < 0.05$)*).



Gambar 8. Pertumbuhan *E. coli* pada selada dengan perlakuan pada penyimpanan suhu 10 °C. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan berdasarkan waktu penyimpanan dan suhu ($p > 0,05$). (The growth of *E. coli* on lettuce with treatment stored at 10 °C. There were no significant differences between treatments based on storage time and temperature ($p > 0.05$)).



Gambar 9. Pertumbuhan *E. coli* pada kubis dengan perlakuan pada penyimpanan suhu 25 °C. Terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan berdasarkan waktu penyimpanan dan suhu ($p < 0,05$). (Growth of *E. coli* on cabbage with treatment stored at 25 °C. There were significant differences between treatments based on storage time and temperature ($p < 0.05$)).



Gambar 10. Pertumbuhan *E. coli* pada kubis dengan perlakuan pada penyimpanan suhu 10 °C. Terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan berdasarkan waktu penyimpanan dan suhu ($p < 0,05$). (*Growth of E. coli on cabbage with treatment stored at 10 °C. There were significant differences between treatments based on storage time and temperature ($p < 0.05$).*)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sebanyak tiga puluh delapan isolat BAL diskriming untuk mengetahui aktivitas antibakteri setiap isolat. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa pertumbuhan *E. coli* mampu dihambat oleh BAL karena BAL mampu menghasilkan produk metabolit yang bersifat antibakteri (Sanam *et al.*, 2022). Berdasarkan Tabel 2, uji antibakteri masing-masing isolat memiliki perbedaan yang tidak signifikan antar fase pertumbuhan. Hal tersebut tidak sejalan dengan penelitian Widjaja *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa periode inkubasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas antimikrob pada isolat *Lactiplantibacillus plantarum*. Di sisi lain, menurut Zangeneh *et al.*, (2020) waktu optimum untuk menghasilkan bakteriosin yaitu pada awal fase stationer sekitar inkubasi 20 jam. Dari hasil penelitian ini, aktivitas antibakteri yang terbentuk kemungkinan besar bukan hanya diperoleh dari produk metabolit sekunder, tetapi juga dipengaruhi dari metabolit primer, seperti asam laktat, asam asetat, dan hidrogen peroksida (Hidayatulloh *et al.*, 2019; Widjaja *et al.*, 2022).

Selama penyimpanan tujuh hari dengan kondisi yang berbeda, selada dan kubis menghasilkan penampakan fisik yang berbeda. Berdasarkan Gambar 3 dan 5, selada yang disimpan pada dua kondisi yang berbeda mengalami perubahan parameter yang berbeda. Pada penyimpanan suhu 25 °C selama tujuh hari, selada mengalami perubahan warna dari hijau muda hingga hijau tua, teksturnya semakin melunak, dan tumbuh kapang di permukaannya sedangkan pada penyimpanan suhu 10 °C selada mengalami sedikit perubahan warna hijau menjadi sedikit lebih pucat dan sedikit lebih layu jika dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan Gambar 4 dan 6, kubis yang disimpan pada suhu 25 °C mengalami perubahan warna dari putih hingga kehitaman dengan tekstur dan tingkat kesegaran yang masih cukup baik. Pada penyimpanan suhu 10 °C, kubis tidak mengalami perubahan warna, tekstur, maupun tingkat kesegaran.

Perbedaan perubahan penampakan fisik pada selada dan sayur disebabkan oleh kandungan nutrisi yang berbeda pada kedua sayur. Kandungan air bebas yang terkandung pada kubis lebih rendah yaitu sebesar 91,98% dibandingkan pada selada sebesar 95,27% (Santya dan Nuryanti 2018). Kandungan air yang lebih tinggi dan penyimpanan pada suhu 25 °C merupakan kondisi optimum bagi mikroorganisme (Macioszek *et al.*, 2023) untuk tumbuh sehingga selada ditumbuhi kapang pada permukaannya setelah penyimpanan selama lima hari. Pada suhu 10 °C, respirasi pada sayur dapat dihambat sehingga selada dan kubis yang disimpan pada suhu tersebut memiliki penampakan fisik yang masih bagus hingga penyimpanan hari ketujuh yang berarti umur simpan sayur juga dapat

diperpanjang (Blongkod *et al.*, 2016). Oleh karena itu, selada dan kubis yang disimpan pada suhu 10 °C memiliki penampakan fisik yang lebih baik dibandingkan pada suhu 25 °C. Di sisi lain, perubahan warna pada selada yang disimpan pada suhu 10 °C terjadi karena pH asam akibat produk metabolit BAL sehingga warna hijau pada sayuran sedikit memucat. Sayuran hijau memiliki kandungan klorofil yang dapat berubah menjadi feofitin pada kondisi asam. Dalam kondisi tersebut, ion magnesium (Mg^{2+}) pada klorofil digantikan oleh ion hidrogen (H^+) sehingga struktur molekul berubah menjadi feofitin. Perubahan struktur molekul tersebut mengakibatkan perubahan warna hijau dari hijau terang menjadi warna hijau yang sedikit memucat (Santra *et al.*, 2021). Untuk itu, aplikasi supernatan BAL dapat dikombinasikan dengan aplikasi *edible coating* untuk meningkatkan karakteristik fisik dari sayuran (Agriopoulou *et al.*, 2020).

Berdasarkan Gambar 7-10, terdapat perbedaan pada kedua isolat untuk semua perlakuan dibandingkan dengan perlakuan *E. coli* saja serta jumlah total *E. coli* pada sayur yang diaplikasikan supernatan BAL lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan *E. coli* saja. Hal ini menandakan bahwa kedua isolat BAL yaitu isolat TL7 dan H1 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* karena produk metabolit yang dihasilkan oleh kedua isolat BAL bersifat antibakteri. Salah satu contohnya seperti isolat *Lactiplantibacillus plantarum* F75 yang mampu menghasilkan produk metabolit seperti asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang bersifat antibakteri, khususnya pada bakteri *E. coli* yang termasuk ke dalam bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif seperti *E. coli* memiliki komponen penyusun lemak yang lebih banyak sehingga bersifat hidrofobik dan lebih mampu terikat oleh bakteriosin sehingga bakteri *E. coli* lebih mudah dihambat pertumbuhannya (Widjaja *et al.*, 2022).

Pertumbuhan *E. coli* pada selada dan kubis yang disimpan pada kedua kondisi penyimpanan memiliki tingkat pertumbuhan yang berbeda. Pada penyimpanan suhu 25 °C, jumlah total *E. coli* pada kedua sayur lebih tinggi dibandingkan jumlah total *E. coli* pada sayur yang disimpan pada suhu 10 °C. Selain itu, selada dan sayur yang disimpan pada suhu 25 °C memiliki jumlah total *E. coli* yang meningkat dari penyimpanan hari pertama hingga hari ketujuh namun sayur selada dan kubis yang disimpan pada suhu 10 °C memiliki jumlah total *E. coli* yang stabil dan cenderung tidak meningkat. Hal tersebut terjadi karena pada suhu rendah aktivitas enzim pada bakteri *E. coli* dapat dihambat sehingga pertumbuhannya pun cenderung terhambat dibandingkan pada suhu 25 °C (Supriatin *et al.*, 2020).

Berdasarkan jenis kedua sayur, sayur selada memiliki tingkat pertumbuhan *E. coli* yang cenderung lebih tinggi dibandingkan sayur kubis. Hal tersebut disebabkan salah satunya akibat kandungan air pada selada lebih tinggi daripada kubis sehingga kandungan tersebut dapat dimanfaatkan oleh *E. coli* untuk bertumbuh dan berkembang (Santya dan Nuryanti 2018). Tidak hanya itu, menurut Zhu *et al.*, (2024), struktur terluar pada kubis dilapisi oleh lapisan lilin sehingga mampu bertindak sebagai pelindung dan membuat mikroorganisme seperti kapang sulit bertumbuh pada permukaan kubis. Selain itu, kubis memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang lebih tinggi dibandingkan pada selada. Dalam 100 g kubis terkandung 18,7 mg fenolik dan 8,8 mg flavonoid (Nawaz *et al.*, 2018) sedangkan pada 100 g selada terkandung 4,18 mg fenolik dan 1,32 mg flavonoid (Nikzad dan Parastar 2021). Kedua kandungan tersebut bersifat antibakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan berbagai mekanisme. Flavonoid mampu mendenaturasi protein pada dinding sel bakteri sedangkan kandungan fenolik bekerja dengan merusak dinding sel bakteri dan menghentikan kerja enzim pada bakteri hingga bakteri mati (Azhariani *et al.*, 2022; Sitorus *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian Tanjaya (2023), jumlah total *E. coli* pada selada dan kubis yang diaplikasikan sel BAL dan disimpan pada suhu 4 °C mampu direduksi hingga 0,5 log CFU/g pada pengamatan hari ketujuh. Pada penelitian ini, jumlah total *E. coli* pada selada dan kubis yang diaplikasikan BAL dan disimpan pada 10 °C mampu direduksi hingga 1,3 log CFU/g pada pengamatan hari ketujuh (Gambar 8 dan 10). Dengan demikian, hal tersebut sejalan dengan penelitian Kuley *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa supernatan BAL terbukti lebih efektif dan stabil untuk aplikasi pada pangan dalam penyimpanan jangka panjang dibandingkan penggunaan sel secara langsung. Namun, di sisi lain, aktivitas antibakteri pada sel utuh lebih baik dibandingkan

aktivitas antibakteri pada supernatan BAL. Hal tersebut terjadi karena dengan adanya sel utuh, BAL mampu bermetabolisme secara langsung untuk memproduksi produk metabolit lebih banyak sehingga aktivitas antibakteri yang dimiliki lebih besar. Pernyataan tersebut berlandaskan pada penelitian Zielńska *et al.*, (2021) bahwa zona hambatan paling besar dihasilkan oleh sel BAL utuh yang diikuti oleh zona hambatan akibat supernatan BAL di bawahnya.

Pada sayuran kubis dan selada juga terdapat mikrobiota alami, seperti *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris*, *Ralstonia solanacearum*, dan *Pseudomonas aeruginosa* mampu membawa dampak negatif baik untuk sayuran maupun untuk manusia. Pada sayuran, mikrobiota alami mampu menjadi mikroba pembusuk sedangkan pada manusia mampu menyebabkan penyakit. Menurut Junnarkar *et al.*, (2019), *Lactobacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan *E. carotovora*, *X. campestris*, *R. solanacearum*, dan *P. aeruginosa* sebagai mikrobiota alami terdapat pada sayuran dan buah-buahan segar. Hal tersebut membuktikan bahwa aplikasi BAL pada sayuran segar berpotensi tidak hanya menghambat pertumbuhan *E. coli* tetapi juga mikrobiota alami yang terdapat pada sayuran.

Berdasarkan hasil analisis yang ada, kondisi penyimpanan terbaik untuk kedua sayuran yaitu sayuran yang disemprotkan supernatan BAL, baik isolat TL7 atau H1, dan disimpan pada suhu 10 °C karena pada suhu tersebut reaksi kimiawi sayuran dan pertumbuhan *E. coli* pada sayur dapat dihambat lebih optimum. Penghambatan kedua mekanisme tersebut membuat sayur kubis dan selada mampu memiliki umur simpan yang lebih panjang dibandingkan pada suhu 25 °C. Oleh karena itu, aplikasi supernatan bebas sel BAL menjadi salah satu solusi untuk memperpanjang umur simpan sayuran dan meminimalisasi timbulnya penyakit diare pada manusia akibat mengonsumsi selada dan kubis tanpa diolah terlebih dahulu.

KESIMPULAN

Dua isolat BAL memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yaitu *Lactiplantibacillus plantarum* TL7 dan H1. Penyemprotan supernatan isolat BAL mempengaruhi perubahan warna dan tekstur dari kubis dan selada. Pada suhu 25 °C terjadi perubahan warna dan tekstur untuk selada serta hanya perubahan warna untuk kubis. Adapun pada suhu 10 °C terjadi perubahan sedikit warna dan tingkat kesegaran pada selada dan tidak terjadi perubahan warna ataupun tekstur pada kubis. Aplikasi supernatan isolat BAL juga mempengaruhi jumlah total *E. coli* pada kedua sayur. Kedua isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* secara nyata dibandingkan dengan perlakuan penambahan *E. coli* saja. Dengan kata lain, kombinasi antara aplikasi penambahan supernatan isolat BAL dan penyimpanan suhu rendah pada selada dan kubis menjadi rekomendasi untuk memperpanjang umur simpan pada kedua sayur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilakukan atas dana hibah penelitian Indofood Riset Nugraha tahun 2023. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Fakultas Teknobiologi yang telah memfasilitasi sarana dan prasarana laboratorium.

KONTRIBUSI PENULIS

Se: melakukan eksperimen, mengolah data, membuat draf artikel; SM: membuat konsep penelitian, menganalisis data, memfinalisasi artikel; YG: menganalisis data, merevisi artikel.

REFERENSI

- Al-Dairi, M., Pathare, P.B., Al-Yahyai, R., Opara, U.L. 2022. Mechanical damage of fresh product in postharvest transportation: current status and future prospects. *Trends in Food Science*, 124, pp.195-207. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.018>.
- Almohammadi, A-R., Abdel-Shafi, S., Tartour, E., Enan, G. 2022. Inhibitory action of three lactic acid cultures on some food-borne pathogens during pickling of green olive fruits. *Heliyon*, 8, p.e11693. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11693>.

- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Krol, M., Varzakas, T. 2020. Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: quality and safety aspects. *Microorganisms*, 8(8), pp.1-24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>.
- Azhariani, M.T., Yuliawati, K.M., Syafnir, L. 2022. Penelusuran pustaka potensi sayuran dari genus Brassica sebagai antibakteri. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2(2), pp.1096-1102. <https://doi.org/10.29313/bcsp.v2i2.4817>.
- Blongkod, N.A., Wenur, F., Longdong, I.A. 2016. Kajian pengaruh pra pendinginan dan penyimpanan terhadap umur simpan brokoli. *Cocos*, 7(5). <https://doi.org/10.35791/cocos.v7i5.13871>.
- BPS. Badan Pusat Statistik. 2023. Produksi tanaman sayuran. Jakarta (ID): BPS.
- BPS. Badan Pusat Statistik. 2024. Luas panen tanaman sayur dan buah-buahan semusim menurut jenis tanaman. Jakarta (ID): BPS.
- Cálix-Lara, T.F., Rajendran, M., Talcott, S.T., Smith, S.B., Miller, R.K., Castillo, A., Sturino, J.M., Taylor, T.M. 2014. Inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention. *Food Microbiology*, 38, pp.192–200. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.006>.
- Choi, S.J., Yang, S.Y., Yoon, K.S. 2021. Lactic acid bacteria starter in combination with sodium chloride controls pathogenic *Escherichia coli* (EPEC, ETEC, and EHEC) in kimchi. *Food Microbiology*, 100, p.103868. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103868>.
- Dewanggana, M.N., Evangeline, C., Ketty, M.D., Waturangi, D.E., Yogiara, Magdalena, S. 2022. Isolation, characterization, molecular analysis and application of bacteriophage DW-EC to control Enterotoxogenic *Escherichia coli* on various foods. *Scientific Reports*, 12, p.495. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04534-8>.
- Elbing, K.L., Brent, R. 2019. Growth of *E. coli* on solid media. *Current Protocols in Molecular Biology*, 125(1), p.e82. <https://doi.org/10.1002/cpmb.82>.
- Garande, V.K., Raut, P.D., Shinde, U.S., Dhupal, S.S., Sonawane, P.N., Sarvade, S.A. 2019. Studies on storage behavior of primary processed leafy vegetables under different storage conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), pp.2249-2272. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2019.806.268>.
- George-Okafor, U., Ozoani, U., Tasie, F., Mba-Omeje, K. 2020. The efficacy of cell-free supernatants from *Lactobacillus plantarum* Cs and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 for the preservation of home-processed tomato-paste. *Scientific African*, 8, p.e00395. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00395>.
- Hidayatulloh, A., Gumilar, J., Harlia, E. 2019. Potensi senyawa metabolit yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 sebagai bahan biopreservasi dan anti bakteri pada bahan pangan asal hewan. *Jurnal Inovasi Teknologi Pendidikan*, 7(2), pp.1–6.
- Hutasoit, D.P. 2020. Pengaruh sanitasi makanan dan kontaminasi bakteri *Escherichia coli* terhadap penyakit diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), pp.779-786. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i1.399>.
- Junnarkar, M., Pawar, S., Gaikwad, S., Mandal, A., Jass, J., Nawani, N. 2019. Probiotic potential of lactic acid bacteria from fresh vegetables: application in food preservation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 57, pp.825-838.
- Kuley, E., Kuscu, M.M., Durmus, M., Ucar, Y. 2021. Inhibitory activity of co-microencapsulation of cell free supernatant from *Lactobacillus plantarum* with propolis extract towards fish spoilage bacteria. *LWT: Food Science and Technology*, 146, p.111433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111433>.
- Lee, J.Y., Yang, S.Y., Yoon, K.S. 2021. Control measures of pathogenic microorganisms and shelf-life extension of fresh-cut vegetables. *Foods*, 10(3), 655. <https://doi.org/10.3390/foods10030655>.
- Macioszek, V.K., Marciniak, P., Kononowicz, A.K. 2023. Impact of *Sclerotinia sclerotiorum* infection on lettuce (*Lactuca sativa* L.) survival and phenolics content—a case study in a

- horticulture farm in Poland. *Pathogens*, 12(12), p.1416. <https://doi.org/10.3390/pathogens12121416>.
- Martinson, J.N.V., Walk, S.T. 2020. *Escherichia coli* residency in the gut of healthy human adults. *EcoSal Plus*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0003-2020>.
- Nawaz, H., Shad, M.A., Muzaffar, S. 2018. Phytochemical composition and antioxidant potential of Brassica. *Brassica Germplasm Characterization, Breeding Utilization*, 1, pp.7-26. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76120>.
- Nikzad, N., Parastar, H. 2021. Evaluation of the effect of organic pollutants exposure on the antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) using UV–Vis spectrophotometry and chemometrics. *Microchemical Journal*, 170, p.106632. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106632>.
- Petruzzi, L., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. 2017. Microbial spoilage of foods: fundamentals. *Microbiology Quality*. Cambridge (GB): Woodhead.
- Sanam, M.U.E., Detha, A.I.R., Rohi, N.K. 2022. Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria, isolated from Sumba mare's milk, against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 9(1), pp.53–58. <https://doi.org/10.5455/javar.2022.i568>.
- Santra, K., Song, A., Petrich, J., Rasmussen, M.A. 2021. The degradation of chlorophyll pigments in dairy silage: the timeline of anaerobic fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(7), pp.2863-2868. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10917>.
- Santya, T.A., Nuryanti. 2018. Studi kelayakan kadar air, abu, protein, dan arsen (As) pada sayuran di pasar Sunter, Jakarta Utara, sebagai bahan suplemen makanan. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), pp.1-13.
- Shehata, A.F., Zayed, G., Saad, O.A.O., Gharib, S.A.H. 2020. Antimicrobial activity and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented dairy products. *Journal of Modern Research*, 2(2), pp.40-48. <https://doi.org/10.21608/jmr.2020.22931.1015>.
- Sitorus, F.C.E., Wulansari, E.D., Sulistyarini, I. 2020. Uji kandungan fenolik total dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Burret) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi Indonesia*, 15(2), pp.1617-1623. <https://doi.org/10.53359/mfi.v15i2.163>.
- Supriatin, Y.S., Fadhilah, F.F., Sumirat, V.A. 2020. Penyimpanan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus pneumoniae* pada media cryoprotective dengan metode freeze drying. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 12(1), pp.24-30. <https://doi.org/10.25134/quagga.v12i1.2148>.
- Tanjaya, S. 2023. Detection of potential lactic acid bacteria as biocontrol agent of *Escherichia coli* on postharvest vegetables and fresh fruits [thesis]. Jakarta (ID): Atma Jaya Catholic University of Indonesia.
- Widjaja, A.N., Sugata, M., Jo, J. 2022. Aktivitas antimikrobal *Lactiplantibacillus plantarum* F75 dan SU-KC1a terhadap pertumbuhan bakteri patogen. *FaST-Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(2), pp.175-183. <https://doi.org/10.19166/jstfast.v6i2.6085>.
- Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., Walker, B. 2018. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*, 8, 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0>.
- Yin, H-B., Chen, C-H., Colorado-Suarez, S., Patel, J. 2022. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* on fresh strawberries with lactic acid bacteria during refrigerated storage. *Foodborne Pathogen and Disease*, 19(5), pp.324–331. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0091>.
- Zangeneh, M., Khorrami, S., Khaleghi, M. 2020. Bacteriostatic activity and partial characterization of the bacteriocin produced by *L. plantarum* sp. Isolated from traditional sourdough. *Food Science & Nutrition*, 8(11), pp.6023-6030. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1890>.
- Zhu, M., Xing, J., Wang, Y. 2024. Transcriptome and metabolome integrated analysis reveals the wax biosynthesis mechanism of *Allium cepa* L. *Scientia Horticulturae*, 333, p.113251. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113251>.

Zielńska, D., Lepecka, A., Oldak, A., Dlugosz, E., Kolozyn-Krajewska, D. 2021. Growth and adhesion inhibition of pathogenic bacteria by live and heat-killed food-origin *Lactobacillus* strains or their supernatants. *FEMS Microbiology Letters*, 368(5), p.fnab024. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab024>.