IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN UJI ANTIMIKROBA DARI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*) YANG DIFERMENTASI PADA SUHU 15^{O}C

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY FROM "SAWI PAHIT" (Brassica juncea (L.) *Czernjaew) FERMENTED AT 15^{O}C*

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat-syarat guna
memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan

Oleh :

GIOVANI AILI BUDIANA

10.70.0011

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
SEMARANG

2014

IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN UJI ANTIMIKROBA DARI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*) YANG DIFERMENTASI PADA SUHU $15^{O}C$

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY FROM "SAWI PAHIT" (Brassica juncea (L.) *Czernjaew) FERMENTED AT* $15^{O}C$

Oleh:

Giovani Aili Budiana

NIM : 10.70.0011

Program Studi : Teknologi Pangan

Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan

di hadapan sidang penguji pada tanggal: 29 Januari 2014

Semarang, 3 Maret 2014

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Katolik Soegijapranata

Pembimbing I,	**Dekan,**
Dra. Laksmi Hartayanie, MP.	**Dr. V. Kristina Ananingsih, ST., MSc.**
Pembimbing II,	
Ir. Lindayani, MP., PhD.	

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul "Identifikasi Bakteri Asam Laktat dan Uji Antimikroba dari Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*) yang Difermentasi pada Suhu 15^{o}C" ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari ternyata terbukti bahwa skripsi ini sebagian atau seluruhnya merupakan hasil plagiasi, maka saya rela untuk dibatalkan dengan segala akibat hukumnya sesuai peraturan yang berlaku pada Universitas Katolik Soegijapranata dan atau peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Semarang, Januari 2014

Giovani Aili Budiana
NIM: 10.70.0011

RINGKASAN

Makanan fermentasi merupakan bahan makanan yang dibuat dengan bantuan mikroba dan mengalami perubahan secara biokimiawi. Salah satu mikroba tersebut adalah bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat berguna bagi kesehatan, terutama bagi pencernaan manusia. Pada dunia pangan, zat antimikrobial yang dihasilkan oleh BAL digunakan sebagai pengawet alami karena kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam makanan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sayur asin yang merupakan hasil fermentasi sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*). Sayur asin dibuat dengan cara dicelup seluruhnya ke dalam air kelapa dengan penambahan garam 2,5% dalam wadah plastik tertutup dan didiamkan pada suhu 15°C selama 10 hari. Metode pengidentifikasian BAL dari sayur asin menggunakan uji karakter morfologikal (pewarnaan Gram dan pewarnaan spora), pembentukan gas, uji aktivitas katalase dan uji motilitas. Isolat BAL yang didapat kemudian dilakukan pengujian kemampuan pertumbuhan BAL pada suhu 10^{o}C, 45^{o}C, 50^{o}C, pH 4,4 dan 9,6 serta kadar NaCl 6,5% dan 18%. Sebelum identifikasi BAL, dilakukan isolasi dan pemurnian BAL dengan media *deMan Ragosa Sharpe Agar* (MRS Agar) metode *spread plate*. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis BAL dan kemampuan antimikroba dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif) yang mampu bertahan pada suhu dingin (15^{o}C). Hasil pengujian kemampuan pertumbuhan BAL diperoleh bahwa empat isolat BAL termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan 18 isolat yang lain diduga sebagai *L. pentosus*. Dua puluh dua isolat BAL yang diperoleh memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat bakteri *Eschericia coli* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif).

SUMMARY

Fermented food is a food that made with help of microbes and undergo biochemical changes. One of the microbes is lactic acid bacteria (LAB). Lactic acid bacteria is beneficial to health, especially for human digestion. Antimicrobial substances produced by LAB are used as a natural preservative because of its ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria in food. Material used in this study is "sayur asin" which is the result of fermented "sawi pahit" (Brassica juncea (L.) *Czernjaew). "Sayur asin" made by dying entirely into coconut water with the addition of 2.5% salt and fermented at 15°C for 10 days. Identification of lactic acid bacteria from "sayur asin" using morfological character test (Gram straining and spore straining), gas production, catalase activity and motility test. Lactic acid bacteria isolates were obtained and then tested the ability of LAB growth at temperature of 10^{o}C, 45^{o}C, 50^{o}C, pH 4.4 and 9.6 and levels of NaCl 6.5% and 18%. Before the LAB identification, it is performed isolation and purification of the LAB with media de Man Ragosa Sharpe Agar (MRS Agar) spread plate method. The porpuse of this study is to identify the types of LAB that has antimicrobial activity in inhibiting Escherichia coli ATCC 25922 (Gram negative) and Staphylococcus aureus ATCC 25923 (Gram positive) were isolated from "sayur asin" fermented on 15°C. The result of the growth ability of LAB are four LAB isolates belong to the genus Lactobacillus and 18 other isolates may identified as L. pentosus. Twenty two LAB isolates obtained have good ability in inhibiting bacteria Escherichia coli (Gram negative) and Staphylococcus aureus (Gram positive).*

KATA PENGANTAR

PujidansyukurPenulispanjatkankehadiratTuhan Yang MahaEsakarenadenganberkatanugerah-NyamakaPenulisdapatmenyelesaikanlaporanskripsidenganjudul: "IdentifikasiBakteriAsamLaktatdanUjiAntimikrobadariSawiPahit (*Brassica juncea* (L.) *czernjaew*) yang DifermentasipadaSuhu 15°C".TujuandaridibuatnyalaporanskripsiiniadalahuntukmemenuhisyaratgunamemperolehgelarSarjanaTeknologiPangan di FakultasTeknologiPertanian, UNIKA Soegijapranata Semarang.

Dalam usaha penulisan laporan skripsi, Penulis tak lepas dari berbagai hambatan dan kesulitan. Akan tetapibantuanpengarahan, bimbingan, dandukungandariberbagaipihaktelahsangatmembantudalamkelancaranskripsidanpenulisanlaporanskripsiini.Maka dari itu, pada kesempatan ini, Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. TuhanYesusKristusatasrahmat, berkat, danbimbingan-NyakepadaPenulissehinggapelaksanaanskripsidanpembuatanlaporanskripsidapatdiselesaikandenganbaik.
2. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST., MSc. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.
3. IbuDra. LaksmiHartayanie, MP. selakupembimbing I danIbuIr. Lindayani, MP., PhD. selakupembimbing II yang telahbersediameluangkanwaktuuntukmembimbing, memberikan saran, dandukungandariawalPenulismelakukanpenelitianhinggaakhirpenulisanskripsiini.
4. Mas Soleh, Mas Pri, danMbaEndah yang telahmembantu, menemanibaiksiangmaupunmalam, sertamemberikanarahandanbimbingankepadaPenulisdalampelaksanaanpenelitian di laboratorium.
5. SeluruhDosendanTenagaKependidikanFakultasTeknologiPertanianUnikaSoegijapranata yang

telahbanyakmembantujugadalamurusanadministrasihinggaterselesaikannyaskripsiini
.

6. PapaEdy, MamaNenny, Regina Caeli, danDerianyang telah memberi dukungan doa, semangat, dan memenuhi segala keperluan Penulis selama pelaksanaan skripsi.
7. Partner dansahabat Penulis, Lucia, Ardelia,Sisca, Edo, Debby, Silvi, Johand, dan Suryayang telah bersama-samasalingmemberi semangat dan dukungan serta membantu Penulissaatpenelitian di laboratoriumhinggapenyusunanlaporanskripsi.
8. Robert EdoWiyanto yang selalumendoakan, memberisemangatsertadukungan yang luarbiasauntukPenulis. Terimakasihkarenaselaluada, baiksukamaupunduka, bagiPenulis.
9. KohAryaWidhinata, Grace Shandy, Febe Evelyn, YokeSiswanto, serta semua mahasiswa/i Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata Semarang, yang telah membantu memberikan informasi dan bantuan lain.
10. AurelianaWinarto yang telahmembantumengajarkanBahasaInggrisdanmemberikansemangatsertadoa.
11. Semua pihak yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu dan memberikan saran serta kritik dalam pelaksanaan skripsi hingga penulisan laporan skripsi.

Penulismenyadaribahwadalampenulisanlaporanskripsiinimasihterdapatbanyakkekuranganka renaketerbatasanpengetahuan, pengalaman, keterampilan, dankemampuanPenulis.Maka dari itu, Penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun dari para pembaca dan semua pihak. Akhir kata, Penulis sangat mengharapkan bahwa laporan ini bermanfaat dan memberikan pengetahuan bagi para pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Januari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN iv
SUMMARY v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR LAMPIRAN xii

1. PENDAHULUAN 1
   1.1. Latar Belakang 1
   1.2. Tinjauan Pustaka 2
      1.2.1.Bakteri Asam Laktat (BAL) 2
      1.2.2.Isolasi dan Karakterisasi dari Bakteri Asam Laktat 5
      1.2.3.Manfaat Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Antimikroba 6
      1.2.4.Sayur Asin 7
   1.3. Tujuan Penelitian 9

2. MATERI METODE 10
   2.1. Materi 10
      2.1.1.Alat 10
      2.1.2.Bahan 10
   2.2. Metode 11
      2.2.1.Pembuatan Sayur Asin 11
      2.2.2.Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat 11
      2.2.3.Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Karakter Morfologikal 11
      2.2.4.Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Aktivitas Katalase 13
      2.2.5.Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Motilitas 13
      2.2.6.Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Produksi Gas 14
      2.2.7.Kemampuan Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai pH, Suhu, dan Kadar NaCl 14
      2.2.8.Aktivitas Antimikroba 15
      2.2.9.Pembuatan Stok Bakteri Asam Laktat 15

3. HASIL PENGAMATAN 16
   3.1. Fermentasi Sayur Asin 16
   3.2. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sayur Asin 16
   3.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sayur Asin 17
      3.3.1.Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Sayur Asin 17
      3.3.2.Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Pewarnaan Gram 18
      3.3.3.Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Pewarnaan Spora 19
   3.4. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Aktivitas Katalase 20
   3.5. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Uji Motilitas 20
   3.6. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Uji Produksi Gas 21
   3.7. Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Kemampuan Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai Suhu, NaCl, dan pH 22

3.8. Aktivitas Antimikroba 25

4. PEMBAHASAN 29
4.1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin 29
4.1.1.Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin 29
4.1.2.Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin 30
4.2. Aktivitas Antimikroba 33

5. KESIMPULAN DAN SARAN 35
5.1. Kesimpulan 35
5.2. Saran 35

6. DAFTAR PUSTAKA 36

7. LAMPIRAN 40

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Perbedaan Karakteristik pada Bakteri Asam Laktat..... 3

Tabel 2. Komposisi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*) (per 100 g) 9

Tabel 3. Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin 18

Tabel 4. Hasil Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Suhu, Kadar NaCl, dan pH 23

Tabel 5. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening dari Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* 26

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*) 8

Gambar 2. Tahapan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari sayur asin 12

Gambar 3. Bahan baku pembuatan sayur asin (sawi pahit "*Brassica juncea* (L.) *Czernjaew*") (a); Proses fermentasi dalam wadah plastik tertutup (b); Sayur asin hasil fermentasi selama 10 hari pada suhu 15^{o}C yang digunakan sebagai substrat pertumbuhan bakteri asam laktat (c) 16

Gambar 4. Isolasi bakteri asam laktat pada isolat 631 yang membentuk zona bening dan koloni tunggal pada media MRS agar dengan $CaCO_3$ 17

Gambar 5. Hasil pewarnaan gram pada isolat 211 dengan mikroskop perbesaran 10 x100 menunjukkan sel berwarna ungu (bakteri Gram positif) 19

Gambar 6. Hasil pengamatan pewarnaan spora pada isolat 431 dengan mikroskop perbesaran 10 x 100 yang menunjukkan sel bakteri tidak membentuk spora 19

Gambar 7. Hasil uji katalase empat isolat (121, 211, 231, dan 311) menunjukkan bakteri tidak memproduksi enzim katalase 20

Gambar 8. Hasil uji motilitas enam isolat (351, 411, 421, 431, 511, dan 522) menunjukkan bakteri *non motile* (tidak bergerak) yang ditandai dengan pertumbuhan bakteri hanya di daerah tusukan 21

Gambar 9. Enam isolat (351, 411, 421, 431, 511, dan 522) tidak menghasilkan gelembung gas pada tabung Durham (bakteri asam laktat dengan tipe homofermentatif) 22

Gambar 10. Pertumbuhan enam isolat (121, 211, 231, 311, 331, dan 341) bakteri asam laktat pada suhu: 10^{o}C (a); 45^{o}C (b); dan 50^{o}C (c) 24

Gambar 11. Pertumbuhan enam isolat (121, 211, 231, 311, 331, dan 341) bakteri asam laktat pada kadar NaCl 6,5% (a); dan pada kadar NaCl 18% (b) 25

Gambar 12. Pertumbuhan enam isolat (121, 211, 231, 311, 331, dan 341) bakteri asam laktat tumbuh pada pH 4,4 (a); dan pada pH 9,6 (b) 25

Gambar 13. Aktivitas antimikroba isolat bakteri asam laktat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. 27

Gambar 14. Zona bening isolat bakteri asam laktat terhadap *Escherichia coli* yang paling tinggi yaitu isolat 612 sebesar 20,53 mm (panah) (a); dan zona bening terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling tinggi yaitu isolat 421 sebesar 25,27 mm (panah) (b) 28

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Media yang Digunakan untuk Pertumbuhan dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat 40

Lampiran 2. Identifikasi Awal Untuk Menentukan Genus Bakteri Asam Laktat 41

Lampiran 3. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Suhu, pH dan Kadar NaCl. 42