

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI
ASAM LAKTAT PADA SAYUR ASIN YANG DIPEROLEH DARI
FERMENTASI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)**

***IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY OF
LACTIC ACID BACTERIA IN “SAYUR ASIN” FROM THE
FERMENTATION OF “SAWI PAHIT”
(*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)***

SKRIPSI

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

Oleh:

SISCA SULISTIOWATI

10.70.0032



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
SEMARANG**

2014

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI
ASAM LAKTAT PADA SAYUR ASIN YANG DIPEROLEH DARI
FERMENTASI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)**

***IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY OF
LACTIC ACID BACTERIA IN “SAYUR ASIN” FROM THE
FERMENTATION OF “SAWI PAHIT”(Brassica juncea (L.) Czernjaew)***

Oleh:

SISCA SULISTIOWATI

NIM: 10.70.0032

Program Studi: Teknologi Pangan

**Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
dihadapan sidang pengujipada tanggal: 30 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 dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat pada Sayur Asin yang Diperoleh dari Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)" 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 diacudalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari ternyata terbukti bahwa skripsi ini sebagian atau seluruhnya merupakan hasil plagiarisme, 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

Sisca Sulistiowati

NIM: 10.70.0032



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus karena hanya atas berkat dan kasih karunia-Nya, penulis berhasil menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat pada Sayur Asin yang Diperoleh dari Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)”.

Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik tentunya tidak terlepas dari bantuan, arahan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST., MSc. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Soegijapranata Semarang.
2. Ibu Dra. Laksmi Hartayanie, MP. selaku pembimbing I dan Ibu Ir. Lindayani, MP., PhD. selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran dan dukungan serta memperjuangkan terselesaikannya skripsi ini mulai dari awal Penulis melakukan penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
3. Seluruh dosen dan staf Tata Usaha Fakultas Teknologi Pertanian yang telah banyak membantudan memberikan dukungan semangat kepada Penulis selama penyusunan skripsi.
4. Papa Sulistio Winarto, Mama Listiana Winarto, Agus Sulistio, Yosie Hartanto dan Vincentius Daniel Sulistio yang selalumemberikan dukungan baik secara material maupun dalam bentuk doa serta semangat selama Penulis melakukan penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
5. Rusdi Hendra yang selalumemberikan dukungan, semangat, doa, menjadi pendengar yang baik serta selalumemani Penulis selama penelitian berlangsung hingga tahap akhir penulisan skripsi ini.
6. Ardalia Ali, Debby Cakra Wijaya, Giovani Aili Budiana, Lucia Haryanto Dirgoluwarso, Silviana Mulyo, Surya Hadisaputra, Johand Wiharta, dan Edo Sanjayasebagai partner kerja Penulis yang telah selalumembantudan memberikan semangat serta bersama-

samadenganPenulismenjalanisukadandukaselamapenelitianberlangsungdanhinggaakhirpembuatanskripsiini.

7. AryaWidinatha, Grace Shandy, Wenny, Olyve, Mas Soleh, Mas PridanMbakEndah yang telahbanyakmembantu, sertamemberikanarahandanbimbingankepadaPenulisdalampelaksanaanpenelitian di laboratorium.
8. Seluruhteman-teman FTP lainnyadariangkatan2010 yang tidakdapatPenulissebutkansatu per satu.
9. Seluruhteman-teman lain yang telahmemberikansemangatdanda yang tidakdapatPenulissebutkansatu per satu.

Penulismenyadaribahwaskripsiinimasihjauhdarisempurnadanmasihbanyakkekurangan.Olehkarenaitu, Penulismengharapankritikdan saran yang membangunbagiparapembaca.Akhir kata, Penulisberharapsemogaskripsiinidapatbermanfaatdanmemberikaninformasibagisemuapihak yang membutuhkan.

Semarang, Januari 2014

Penulis

SiscaSulistiowati

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	iv
<i>SUMMARY</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tinjauan Pustaka	2
1.2.1. Bakteri Asam Laktat (BAL)	2
1.2.2. Sayur Asin Sebagai Media Penghasil Bakteri Asam Laktat.....	4
1.2.3. Potensi Bakteri Asam Laktat Sebagai Antimikroba	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	7
2. MATERI METODE	8
2.1. Materi	8
2.1.1. Alat	8
2.1.2. Bahan	8
2.2. Metode.....	9
2.2.1. Pembuatan Sayur Asin	9
2.2.2. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat	9
2.2.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Karakter Morfologikal	11
2.2.4. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Aktivitas Katalase	12
2.2.5. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Motilitas	12
2.2.6. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Produksi Gas	12
2.2.7. Kemampuan Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai Suhu, Kadar NaCl dan pH.	12
2.2.8. Pembuatan Kultur Stok Bakteri Asam Laktat	13
2.2.9. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat.....	13
3. HASIL PENELITIAN	15
3.1. Fermentasi Sayur Asin	15
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. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Pewarnaan Gram	18

3.3.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Pewarnaan Spora	19
3.3.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Aktivitas Katalase.....	19
3.3.4. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Uji Motilitas	21
3.3.5. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Produksi Gas.....	21
3.3.6. Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Kemampuan Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai pH, Suhu, dan Kadar NaCl	23
3.4. Aktivitas Antimikroba.....	26
4. PEMBAHASAN.....	29
4.1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin	30
4.1.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin	30
4.1.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin	30
4.2. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Sayur Asin	34
5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1. Kesimpulan.....	36
5.2. Saran.....	36
6. DAFTAR PUSTAKA.....	37
7. LAMPIRAN	41

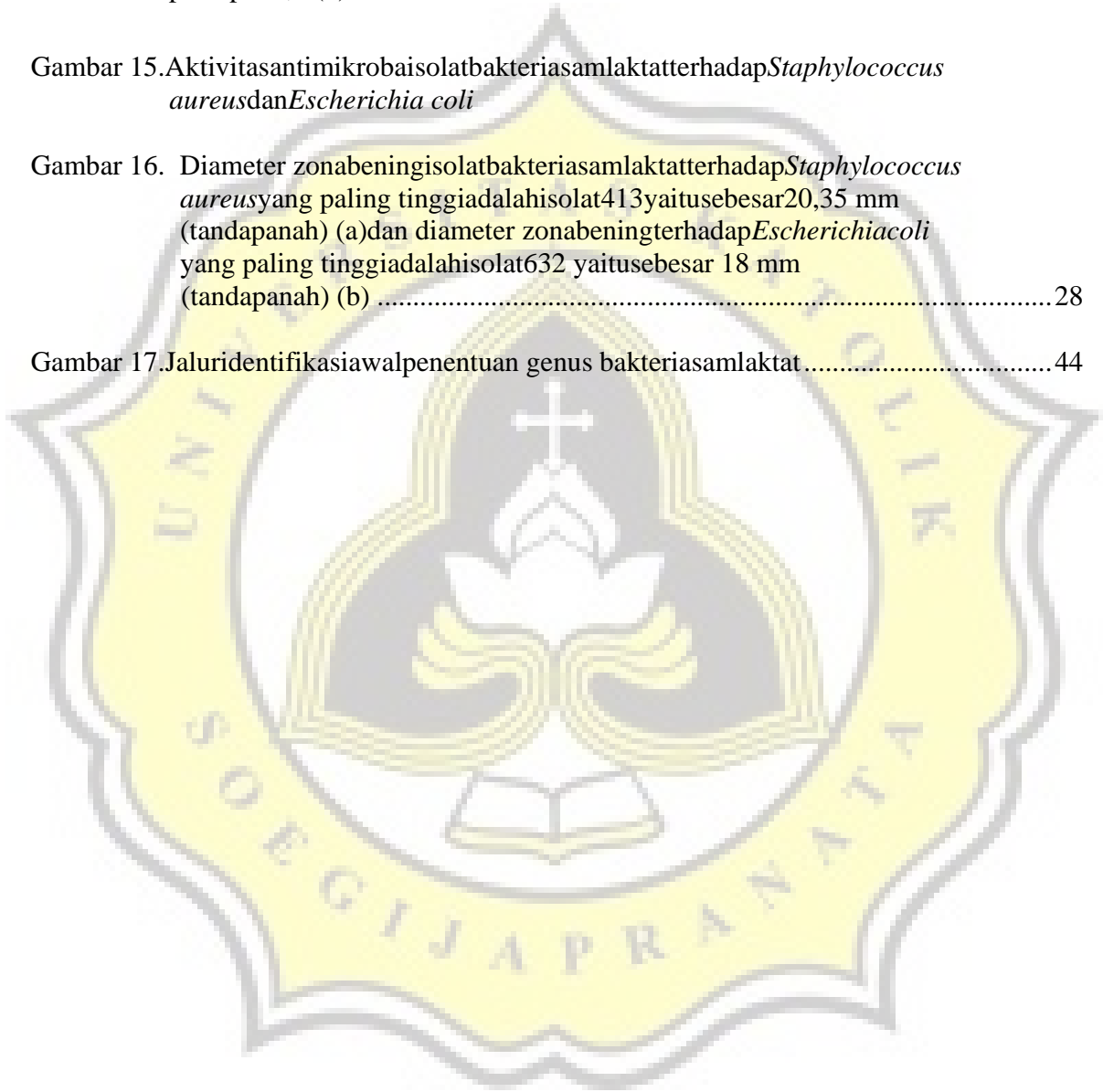
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Sawi Pahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew)	5
Tabel 2. Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Sayur Asin	17
Tabel 3. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu, Kadar NaCl, dan pH	23
Tabel 4. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening dari Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Patogen <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	26
Tabel 5. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu	42
Tabel 6. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl	43
Tabel 7. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai pH	43

DAFTAR GAMBAR

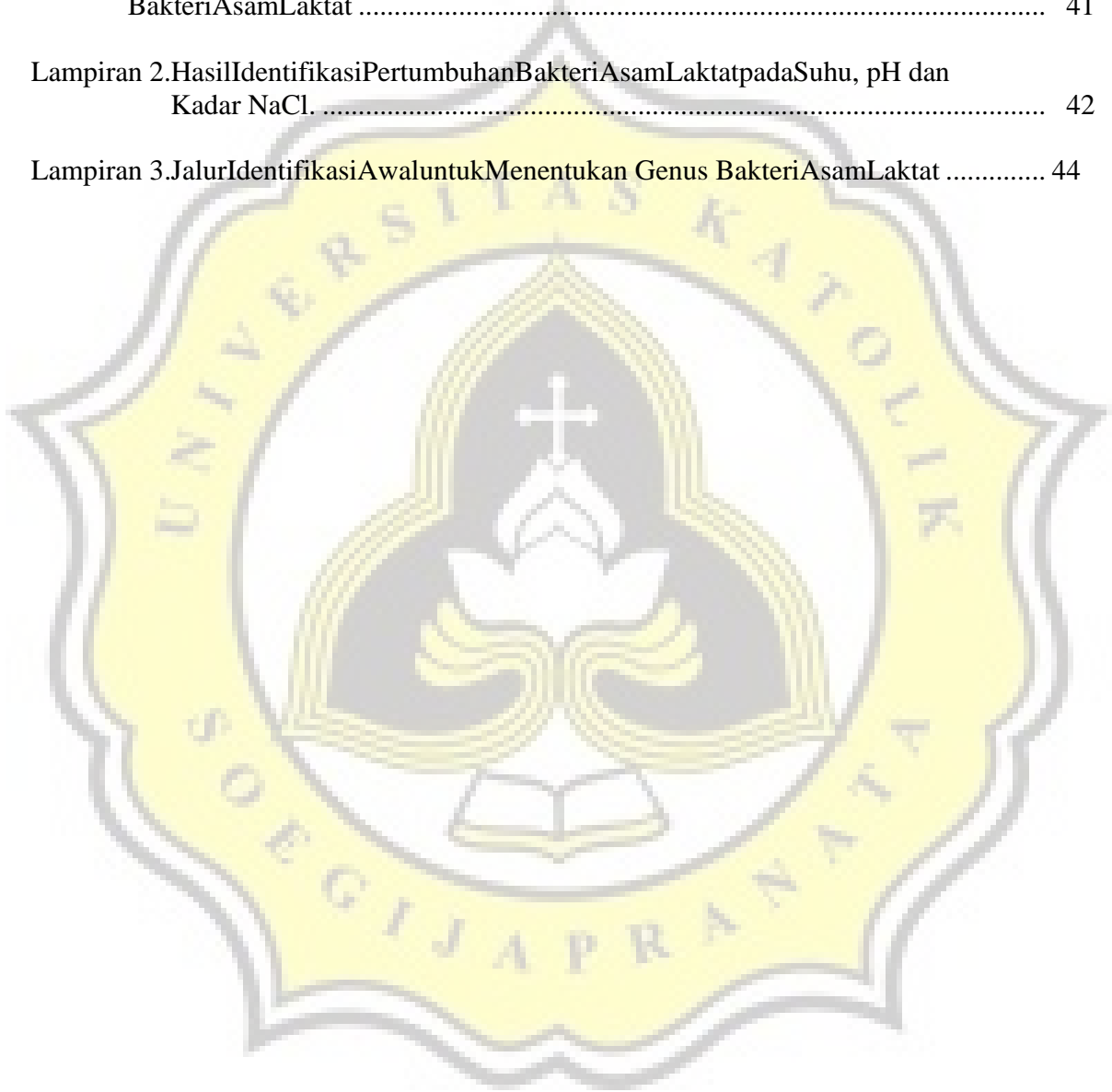
	Halaman
Gambar 1. Proses fermentasi asam laktat oleh bakteriasam laktat.....	3
Gambar 2. Sawipahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew) sebagai bahan baku sayuranasin	4
Gambar 3. Tahapan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari sayur asin	10
Gambar 4. Bahan baku pembuatan sayuranasin (sawipahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew)) (a); Sayurasin yang digunakan sebagai substrat pertumbuhan bakteriasam laktat dan telah melalui proses fermentasi selama 7 (tujuh) hari dalam larutan garam 2,5% (b)	15
Gambar 5. Isolasi bakteriasam laktat pada isolat 413 yang membentuk zona bening dan koloni tunggal pada media MRS agar dengan CaCO_3 (tandapanah)	16
Gambar 6. Hasil pengamatan pewarnaan gram pada isolat 411 dengan mikroskop perbesaran 10 X 100 menunjukkan sel berwarna ungu (bakteri gram positif)..	18
Gambar 7. Hasil pengamatan pewarnaan spora pada isolat 411 dengan mikroskop perbesaran 10 X 100 menunjukkan sel bakteri tidak membentuk spora	19
Gambar 8. Hasil uji katalase isolat 411, 413, 431, 432 yang tidak memproduksi enzim katalase ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada koloni isolat dalam larutan H_2O_2 serta pada sekitarnya	20
Gambar 9. Hasil uji motilitas isolat 411, 413, 431, 432, 433 menunjukkan bakteri <i>non-motile</i> (tidak bergerak) yang ditandai dengan pertumbuhan bakteri di sekitar daerah tusukan	21
Gambar 10. Hasil uji produksi gas isolat 411, 413, 431, 432, 433 yang tidak menghasilkan gelembung gas pada tabung Durham (bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi homofermentatif)	22
Gambar 11. Hasil uji produksi gas isolat 534, 613, 621 yang menghasilkan gelembung gas pada tabung Durham (bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi heterofermentatif).....	22
Gambar 12. Isolat bakteriasam laktat dapat tumbuh pada suhu 10°C (a); 45°C (b); dan 50°C (c)	24

Gambar 13. Isolat bakteriasamlaktat dapat tumbuh pada kadar NaCl 6,5% (a); namun tidak dapat tumbuh pada kadar NaCl 18% (b)	25
Gambar 14. Isolat bakteriasamlaktat tumbuh pada pH 4,4 (a); namun tidak tumbuh pada pH 9,6 (b).....	25
Gambar 15. Aktivitas antimikroba isolat bakteriasamlaktat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	
Gambar 16. Diameter zonabening isolat bakteriasamlaktat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> yang paling tinggi adalah isolat 413 yaitu sebesar 20,35 mm (tanda panah) (a) dan diameter zonabening terhadap <i>Escherichia coli</i> yang paling tinggi adalah isolat 632 yaitu sebesar 18 mm (tanda panah) (b)	28
Gambar 17. Jalur identifikasi awal penentuan genus bakteriasamlaktat	44



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Media yang Digunakan Untuk Pertumbuhan dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat	41
Lampiran 2. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Suhu, pH dan Kadar NaCl.	42
Lampiran 3. Jalur Identifikasi Awal untuk Menentukan Genus Bakteri Asam Laktat	44



RINGKASAN

Bakteri asam laktat (BAL) banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan dan pangan. Salah satu potensi BAL adalah menghasilkan substansi antimikroba yang dapat digunakan untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari makanan hasil fermentasi, salah satunya sayur asin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat yang berasal dari fermentasi sawipahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) atau bahan "sayur asin" serta melakukan seleksi potensi antimikroba bakteri asam laktat berdasarkan aktivitas penghambatannya terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Sayur asin terbuat dari sawipahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) yang ditambahkan dengan larutan air kelapa yang telah dicampur dengan garam konsentrasi 2,5% (b/v) dalam container plastik, kemudian ditutup rapat dan proses fermentasi berlangsung selama 7 hari. Pengujian yang dilakukan meliputi identifikasi BAL dengan uji biokimia (pewarnaan gram, pewarnaan spora, uji katalase, uji motilitas, uji produksi gas), pengujian kemampuan pertumbuhan bakteri asam laktat pada suhu 10°C, 45°C, 50°C, pH 4,4 dan 9,6 serta kadar NaCl 6,5% dan 18%, pengujian aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dengan metode difusi agar (*well assay*). Berdasarkan hasil identifikasi BAL dengan uji biokimia, diperoleh 16 isolat bakteri asam laktat dengan 3 dari 16 isolat yang ada merupakan bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi heterofermentatif dan 13 lainnya merupakan homofermentatif karena tidak membentuk gas pada tabung Durham. Berdasarkan hasil uji kemampuan pertumbuhan bakteri asam laktat pada berbagai suhu, pH dan kadar NaCl, dari 16 isolat diperoleh 9 isolat yang menunjukkan pertumbuhan pada suhu 10°C, 45°C, 50°C, kadar NaCl 6,5%, serta pada pH 4,4, namun tidak dapat tumbuh pada kadar NaCl 18% dan pH 9,6 yang termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan semuanya memiliki aktivitas antimikroba karena menghasilkan zona bening disekitar sumuran, dengan diameter zona bening terbesar oleh isolat 413 pada penghambatan *Staphylococcus aureus* (20,35 mm) dan isolat 632 pada penghambatan *Escherichia coli* (18 mm). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang tumbuh pada sayur asin termasuk dalam homofermentatif *Lactobacillus* dan heterofermentatif *Lactobacillus* yang memiliki aktivitas antimikroba.

SUMMARY

Lactic acid bacteria (LAB) is widely used in the field of health and foods. One of the potential of LAB is producing antimicrobial substances that can be used to prevent the growth of pathogenic bacteria. Lactic acid bacteria can be obtained from fermented foods, such as vegetables. The aim of this study is to isolate and identify lactic acid bacteria derived from fermented "sawipahit" (*Brassica juncea*(L.) Czernjaew) or "sayurasin" and selecting the antimicrobial potency of lactic acid bacteria based on its inhibitory activity against pathogenic bacteria *Escherichia coli* (Gram negative) and *Staphylococcus aureus* (Gram positive). "Sayurasin" made from "sawipahit" (*Brassica juncea*(L.) Czernjaew) were added to a solution of coconut water that has been mixed with 2.5 % (w / v) salt concentration in a sealed plastic container and the fermentation process occurred in 7 days. Testing was conducted on the identification of LAB with biochemical tests (Gram staining, spore staining, catalase test, motility test and gas production), testing the ability of the growth of lactic acid bacteria at temperature of 10°C, 45°C, 50°C, pH 4.4 and 9.6, 6.5 and 18% NaCl concentration, antimicrobial activity assay of LAB against pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* (Gram negative) and *Staphylococcus aureus* (Gram positive) using well assay method. Based on the results of LAB identification with biochemical tests there were 16 isolates of lactic acid bacteria with 3 out of 16 isolates constitute homofermentative type of fermentation and the rest are heterofermentative (did not form gas on Durham tube). Meanwhile, the results of the ability of lactic acid bacteria growth at various temperatures, pH and NaCl concentration, there were only 9 isolates showed growth at a temperature of 10°C, 45°C, 50°C, 6.5 % NaCl concentration, as well as at pH 4.4, but can not grow at 18 % NaCl concentration and pH 9.6. Nine isolates were belong to the genus of *Lactobacillus* and all of them have antimicrobial activity against *Escherichia coli* (Gram negative) and *Staphylococcus aureus* (Gram positive) because it formed clear zone. Largest diameter of the clear zone belongs to isolate 413 for inhibition of *Staphylococcus aureus* (20.35 mm) and isolate 632 for *Escherichia coli* (18 mm). The results of this study indicated that the lactic acid bacteria that grow in "sayurasin" are homofermentative *Lactobacillus* and heterofermentative *Lactobacillus* with antimicrobial potency.