RESISTENSI ISOLAT *Lactobacillus* HASIL FERMENTASI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.)) SEBAGAI PROBIOTIK PADA KONSENTRAT UBI JALAR UNGU

RESISTANCY OF Lactobacillus ISOLATES FROM FERMENTED "SAWI PAHIT" (*Brassica juncea* (L.)) *AS A PROBIOTIC IN PURPLE SWEET POTATO CONCENTRATE*

SKRIPSI

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

Oleh :
CYNTHIA CHRISTINNE SUNARTO
11.70.0047

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
SEMARANG

2015

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama	: Cynthia Christinne Sunarto
NIM	: 11.70.0047
Fakultas	: Teknologi Pertanian
Program Studi	: Teknologi Pangan

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Resistensi Isolat *Lactobacillus* Hasil Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea*(L.)) sebagai Probiotik pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu" merupakan karya saya dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila saya tidak jujur, maka gelar dan ijazah yang saya peroleh dinyatakan batal dan akan saya kembalikan kepada Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, Maret 2015

Cynthia Christinne Sunarto

RESISTENSI ISOLAT *Lactobacillus* HASIL FERMENTASI SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.)) SEBAGAI PROBIOTIK PADA KONSENTRAT UBI JALAR UNGU

RESISTANCY OF Lactobacillus ISOLATES FROM FERMENTED "SAWI PAHIT" (*Brassica juncea* (L.)) *AS A PROBIOTIC IN PURPLE SWEET POTATO CONCENTRATE*

Oleh:

CYNTHIA CHRISTINNE SUNARTO

NIM : 11.70.0047

Program Studi : Teknologi Pangan

Laporan Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
di hadapan sidang penguji pada tanggal
2 Maret 2015

Semarang, 19 Maret 2015
Fakultas Teknologi Pertanian
Program Studi Teknologi Pangan
Universitas Katolik Soegijapranata

Pembimbing I,

Dra. Laksmi Hartayanie, MP.

Pembimbing II,

Ir. Lindayani, MP., PhD.

Dekan,

Dr. V. Kristina Ananingsih, ST.,MSc.

RINGKASAN

Lactobacillus merupakan kelompok bakteri asam laktat yang dapat memberikan banyak manfaat dalam pembentukan citarasa produk fermentasi. *Lactobacillus* dapat diperoleh melalui fermentasi anaerob sawi pahit (*Brassica juncea* (L.)) dalam perendaman air kelapa dengan kadar garam 5%, yang dilakukan pada suhu 15°C selama 7 hari. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui resistensi 5 isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi sawi pahit sebagai bakteri probiotik pada konsentrat ubi jalar ungu dan mengetahui tingkat resistensinya apabila ditambahkan agen pengawet (sodium benzoat) ke dalam minuman probiotik konsentrat ubi jalar ungu yang disimpan pada suhu *refrigerator* (4°C) selama 4 hari. Metode pengujian meliputi pemurnian dan identifikasi bakteri asam laktat (pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas, serta uji kemampuan tumbuh pada suhu (10°C, 45°C, dan 50°C), pH (4,4 dan 9,6), dan konsentrasi NaCl (6,5% dan 18%). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri asam laktat termasuk ke dalam genus *Lactobacillus* yang mampu tumbuh pada suhu 10-50°C, pada pH 4,4 dan 9,6, serta pada kadar NaCl 6,5%. Isolat *Lactobacillus* bersifat Gram positif, katalase negatif, dan non-*motil*. Pengujian dilanjutkan dengan uji probiotik (uji garam empedu & uji ketahanan asam), uji aktivitas antimikroba dan uji spesies dengan API 50 CHL. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kelima isolat *Lactobacillus* memiliki kemampuan sebagai bakteri probiotik dengan kemampuan antimikroba terbesar pada isolat 22J baik terhadap *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus* dan teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* 1 dengan tingkat signifikansi 96,6%. Untuk mengetahui resistensi *L. plantarum* sebagai probiotik pada konsentrat ubi jalar ungu, dilakukan pengujian secara kualitatif. Konsentrat ubi jalar ungu dengan penambahan starter bakteri probiotik *Lactobacillus* 3% (Perlakuan I) dibandingkan dengan konsentrat ubi jalar ungu yang ditambah starter bakteri probiotik *Lactobacillus* 3% dan sodium benzoat 0,05% sebagai agen pengawet (Perlakuan II). Hasil pengujian menunjukkan bahwa dengan penambahan sodium benzoat 0,05% (Perlakuan II) maupun tanpa penambahan sodium benzoat (Perlakuan I), kelima isolat probiotik *Lactobacillus* dalam konsentrat ubi jalar ungu yang disimpan pada suhu *refrigerator* (4°C) mampu menunjukkan resistensinya selama 4 hari. Hal ini ditunjukkan dengan kestabilan kepadatan koloni pada 10^8 cfu/ml sampai dengan hari ke-4.

SUMMARY

Lactobacillus is a group of lactic acid bacteria which can give a lot of benefits in the formation of flavor fermentation product. Lactobacillus can be obtained through the anaerobic fermentation of sawi pahit (Brassica juncea (L.)) *that soaking in coconut water with 5% of salt, conducted in 15°C for 7 days. The goal of this research is to find the resistance of 5 lactic acid bacteria that was isolated from fermented sawi pahit as a probiotic bacteria on the purple sweet potato concentrate and to knows the level of that resistance if added with sodium benzoate as a preservative agent in probiotic drink purple sweet potato concentrate that stored at 4°C for 4 days. The first method for this research are purification and identification of lactic acid bacteria (staining Grams, catalase test, moltility test, and the growth ability test at different temperature (10°C, 45°C, and 50°C), pH (4.4 and 9.6), andconcentration of NaCl (6,5% and 18%). The identification shows that the lactic acid bacteria belonging to the genus of Lactobacillus because they can growth at 10-50°C, pH 4.4 and 9.6, and in 6,5% NaCl concentration. Lactobacillus isolates also include in Gram positive, catalase negative, and non-motil bacteria. Testing continued with probiotics test (bile salts tolerance & acid tolerance), antimicrobe activity test, and identification od species with API 50 CHL. The result shows that 5 Lactobacillus isolates has the ability as a probiotic bacteria, 22J isolate that have largest ability of antimicrobe against Escherichia coli and Staphylococcus aureus, and identified as Lactobacillus plantarum 1 with 96.6% significance. To find out the resistance of Lactobacillus as probiotics in purple sweet potato concentrate, the testing in a qualitative manner is done. Purple sweet potato concentrate by the addition of 3% probiotic starter of Lactobacillus (Treatment I) compared with purple sweet potato concentrate by the addition of 3% probiotic starter of Lactobacillus and 0.05% sodium benzoate as preservative agent (Treatment II). This research gives result that with the addition of 0.05% sodium benzoate, although without the addition of 0.05% sodium benzoate (Treatment I), the five probiotics Lactobacillus strains able to provide resistance in purple sweet potato probiotic drink that stored at refrigerator (4°C) during 4 days. This testing shown with the stability of the crowded colony at 10^8 cfu/ ml until the 4th day.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat kasih dan karunia serta penyertaanNya, Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul "Resistensi *Lactobacillus* Hasil Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.)) sebagai Probiotik pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu". Penulisan laporan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian, Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang. Penelitian skripsi ini merupakan bagian dari penelitian terapan yang berjudul "Efek Probiotik dan Mikrostatik dari Bakteri Asam Laktat yang Berperan dalam Fermentasi Acar Rebung" tahun 2014 yang didanai oleh Dinas Pendidikan Pemerintah Provinsi Jawa Tengah, nomor Naskah Perjanjian Hibah Daerah (NPHD) 900/19564 tanggal 10 Desember 2014.

Seluruh keberhasilan dan kelancaran penulisan skripsi ini tentu tidak terlepas dari bimbingan, arahan, bantuan, kerjasama, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, S.T., MSc. Sebagai Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Katolik 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 arahan, nasihat, saran, dan dukungan penuh kepada Penulis mulai dari awal penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
3. Papi, Mami, dan Jeffry Christian Sunarto yang selalu mendukung dalam doa dan selalu memberi semangat dari awal penelitian sampai dengan akhir penulisan skripsi ini.
4. F. Christian Hadi Winata yang telah memberikan dukungan doa, semangat, dan bantuan serta dorongan selama Penulis melakukan penelitian di laboratorium.
5. Cindy, Danesh, Monica, Vivi, Melany, Amadea, Ikke, Melita, dan Grace sebagai rekan seperjuangan yang selalu menemani, bekerja sama, dan selalu kompak serta

selalu memberi dukungan dari mulai pembuatan proposal skripsi, pelaksanaan penelitan di laboratorium, penulisan skripsi, hingga ujian skripsi.

6. Amelia Juwana, S.TP (Cik Ameju) dan Johand Wiharta Putra Singgih, S.TP yang dengan sabar memberikan bantuan, arahan, masukan, serta bimbingan selama Penulis melakukan penelitian di Laboratorium.
7. Mbak Endah, Mas Sholeh, dan Mas Pri sebagai laboran Fakultas Teknologi Pertanian yang telah membantu memberikan arahan, saran dan bimbingan kepada Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
8. Pdt Yermia Krismanto, Tante Happy Riana, dan Yonathan Miracle yang selalu memahami dalam suka maupun duka dan memberikan semangat serta dukungan doa kepada Penulis selama proses pengerjaan skripsi ini dari awal hingga akhir.
9. Timotius Edwardo Dwicky, Stefen, Jonathan, dan seluruh keluarga GIA Puri Anjasmoro yang selalu menyediakan waktunya untuk berbagi suka dan duka, memberikan semangat, serta dorongan demi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
10. Teman-teman Fakultas Teknologi Pertanian angkatan 2011 yang telah banyak memberikan bantuan untuk Penulis baik dari tenaga maupun pemikiran serta semangat selama pelaksanan skripsi ini.
11. Teman-teman yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu yang telah banyak membantu serta memberikan semangat dalam pelaksanaan skripsi ini hingga selesai.

Penulis menyadari bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, serta masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, berbagai saran dan kritik yang membangun dan bermanfaat bagi Penulis dari pada pembaca dan semua pihak sangat Penulis harapkan. Akhir kata, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan dapat memberikan tambahan pengetahuan bagi para pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Maret 2015

Penulis

Cynthia Christinne

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN……..... iv
SUMMARY……. 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……..... 3
      1.2.1. Bakteri Asam Laktat (BAL)……..... 3
      1.2.2. Bakteri Asam Laktat Asal Sawi Pahit……..... 4
      1.2.3. Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat……... 6
      1.2.4. Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)…… 7
   1.3. Tujuan Penelitian……... 8

2. MATERI DAN METODE…… 9
   2.1. Waktu dan Tempat Penelitian……... 9
   2.2. Materi……..... 9
      2.2.1. Alat……... 9
      2.2.2. Bahan……... 9
   2.3. Metode……... 12
      2.3.1. Peremajaan Isolat Bakteri Asam Laktat……..... 12
      2.3.2. Pemurnian dan Preparasi Isolat Uji Bakteri Asam Laktat……... 12
      2.3.3. Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat. ……..... 13
      2.3.4. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat……. 15
      2.3.5. Pengujian Aktivitas Antimikroba BAL……..... 15
      2.3.6. Pengujian Spesies Bakteri Asam Laktat……. 16
      2.3.7. Pengujian Resistensi Probiotik BAL pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu……..……. 17

3. HASIL PENELITIAN…….. 20
   3.1. Pemurnian Isolat Bakteri Asam Laktat……..... 20
   3.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat…… 21
      3.2.1. Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat……... 21
      3.2.2. Aktivitas Katalase Bakteri Asam Laktat……. 21
      3.2.3. Motilitas Bakteri Asam Laktat…… 22
      3.2.4. Kemampuan Tumbuh Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu, pH, dan NaCl……... 22
   3.3. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat……. 24
      3.3.1. Uji Garam Empedu (*Bile Salt Tolerancae*) …… 24
      3.3.2. Uji Ketahanan Terhadap Asam (*Acid Tolerance*) ……... 24
   3.4. Pengujian Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat……... 28

3.5. Pengujian Spesies Bakteri Asam Laktat……. 29
3.6. Pengujian Resistensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu……... 33
3.6.1. Pembuatan Kultur Starter Bakteri Asam Laktat…….. 33
3.6.2. Resistensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu……... 33

4. PEMBAHASAN…….. 37
4.1. Pemurnian Bakteri Asam Laktat……. 37
4.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat……. 38
4.3. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat……. 42
4.4. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat……... 44
4.5. Pengujian Spesies Bakteri Asam Laktat…….. 46
4.6. Pengujian Resistensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu……... 47

5. KESIMPULAN DAN SARAN……... 52
5.1.Kesimpulan……. 52
5.2.Saran …….. 52

6. DAFTAR PUSTAKA……... 53

7. LAMPIRAN……. 59

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus*…… 5

Tabel 2. Kandungan Gizi Ubi Jalar Ungu dalam Setiap 100 gram Bahan Segar……..... 7

Tabel 3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat……. 23

Tabel 4. Pengujian Probiotik Bakteri Asam Laktat dengan Garam Empedu (*Bile Salt Tolerance*) dan Asam (*Acid Tolerance*)…… 25

Tabel 5. Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*……..... 28

Tabel 6. Komponen Aktif sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Isolat 22J menggunakan API 50 CHL..…… 30

Tabel 7. Pengujian Resistensi Probiotik Isolat BAL Selama 4 hari pada Suhu *Refrigerator*……. 34

Tabel 8. Pengukuran Nilai Absorbansi pada Berbagai Tingkatan Suhu…… 59

Tabel 9. Pengukuran Nilai Absorbansi pada Berbagai Tingkatan pH……... 60

Tabel 10. Pengukuran Nilai Absorbansi pada Berbagai Tingkatan NaCl…… 60

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Diagram Penelitian terhadap Uji Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.))……..... 10

Gambar 2. Pengaplikasian Kemampuan Resistensi Probiotik BAL dari Fermentasi Sawi Pahit (*Brassica juncea* (L.)) pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu…….…….. 11

Gambar 3. Starter Bakteri Asam Laktat Isolat 43J, 22J, 52J, 42J, dan 71J yang digunakan dalam Pembuatan Minuman Probiotik Konsentrat Ubi Jalar Ungu…… 18

Gambar 4. Pemurnian Isolat BAL yang Membentuk Zona Bening dan Koloni Tunggal pada Isolat 43J (tanda panah)…….. 20

Gambar 5. Pewarnaan Gram Isolat 71J yang Termasuk Bakteri Gram Positif pada Perbesaran 10x40……..…….…..... 21

Gambar 6. Aktivitas Katalase Negatif pada Isolat 42J (tanda panah)……..... 21

Gambar 7. Uji Motilitas yang Bersifat Non-*motil* pada Isolat 43J, 22J, 52J, 42J, dan 71J (tanda panah)…….....…… 22

Gambar 8. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat Bersifat Positif dengan Uji Garam Empedu (*Bile Salt*) pada jam ke-0 (a), jam ke-2 (b), dan jam ke-4 (c) yang ditunjukkan dengan Adanya Pertumbuhan Isolat 52J pada Permukaan Media MRS Agar…….. 26

Gambar 9. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat Bersifat Positif dengan Uji Ketahanan Asam (*Acid Tolerance*) pada pH 3 jam ke-0, 1,5, dan 3 (a1, b1, c1) dan pada pH 7 jam ke-0, 1,5, dan 3 (a2, b2, c2) yang ditunjukkan dengan Adanya Pertumbuhan Isolat 52J pada Permukaan Media MRS Agar……. 27

Gambar 10. Kemampuan Antimikroba Isolat 22J terhadap Bakteri *Escherichia coli* (a) dan *Staphylococcus aureus* (b) dengan Zona Hambat masing-masing sebesar 10,0 – 10,9 mm dan 7,7 – 14,7 mm……... 29

Gambar 11. Pengujian Spesies Bakteri Asam Laktat Isolat 22J dengan API 50 CHL Sebelum Diinkubasi (a); Setelah Diinkubasi (b); Hasil Analisa Perubahan Warna untuk Diidentifikasi Lebih Lanjut dengan API *Software* (c)……...….. 32

Gambar 12. Kultur Starter Bakteri Asam Laktat Isolat 52J pada Pengenceran 10^{-8} Menunjukkan Hasil *Spreader* pada Permukaan Media MRS Agar...….. 33

Gambar 13. KUJU Sebelum Fermentasi oleh BAL dan Ditambah Pengawet (a), dan KUJU Setelah Fermentasi oleh BAL dan Ditambah Pengawet selama 4 (empat) hari pada suhu 4°C (b)……..…….. 35

Gambar 14. Pengujian Potensi Probiotik BAL Isolat 52J pada Konsentrat Ubi Jalar Ungu pada Hari ke-1, 2, 3, dan 4: KUJU + BAL (a1, b1, c1, d1); KUJU + BAL + Sodium Benzoat 0,05% (a2, b2, c2, d2) dengan Hasil Positif (+) pada Pengenceran 10^{-8}…..……..... 36

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Tingkatan Suhu, pH, dan Kadar NaCl…….. 59

Lampiran 2. Laporan Identifikasi Spesies *Lactobacillus* Isolat 22J dengan API *Software*…..... 61

Lampiran 3. Media yang Digunakan untuk Pertumbuhan dan Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat……. 62

Lampiran 4. Komposisi Larutan Standar *McFarland* No. 2 dan No.3……. 63