

**IDENTIFIKASI DAN PENGUJIAN AKTIVITAS
ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT YANG
DIISOLASI DARI SAYUR ASIN (SAWI PAHIT
FERMENTASI) (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)
DALAM LARUTAN GARAM 5%**

***IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF
LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM
“SAYUR ASIN” (FERMENTED “SAWI PAHIT”)
(*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) IN 5% OF SALT
CONCENTRATION***

SKRIPSI

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

Oleh:

SILVIANA MULYO

10.70.0108



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

2014

**IDENTIFIKASI DAN PENGUJIAN AKTIVITAS
ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT YANG
DIISOLASI DARI SAYUR ASIN (SAWI PAHIT
FERMENTASI) (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew)
DALAM LARUTAN GARAM 5%**

***IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF
LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM
“SAYUR ASIN” (FERMENTED “SAWI PAHIT”)
(*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) IN 5% OF SALT
CONCENTRATION***

Oleh:

SILVIANA MULYO

NIM : 10.70.0108

Program Studi: Teknologi Pangan

**Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
di hadapan sidang penguji pada 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 Pengujian Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Sayur Asin (Sawi Pahit Fermentasi) (*Brassica Juncea* (L.) Czernjaew) dalam Larutan Garam 5%” 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 dalam 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

Silviana Mulyo
NIM 10.70.0108

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena dengan anugrah dan kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Identifikasi dan Pengujian Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Sayur Asin (Sawi Pahit Fermentasi) (*Brassica Juncea* (L.) *Czernjaew*) dalam Larutan Garam 5%”. Selama penulisan skripsi ini, Penulis menerima pengarahan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST., MSc. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian UNIKA Soegijapranata yang telah memberi kesempatan dan dukungan dalam penulisan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Laksmi Hartayanie, MP. dan Ibu Ir. Lindayani, MP., PhD. selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran dan dukungan yang luar biasa dari awal proposal hingga akhir penulisan skripsi ini ☺
3. Seluruh Dosen, Laboran dan Staf Karyawan FTP yang telah membantu dan memberi dukungan dan saran selama pelaksanaan penelitian di laboratorium maupun dalam penulisan skripsi.
4. Mama, Papa, Ooh Felix dan seluruh keluarga besar yang senantiasa memberikan dukungan-dukungan berupa doa, semangat dan nasihat yang menguatkan selama penulisan skripsi dari awal hingga akhir.
5. Debby, Johand ‘Brown’, Surya, Lusi, Yaya, Aili dan Sisca sebagai teman seperjuangan, yang senantiasa memberikan dukungan, saran, semangat, tawa serta kekuatan untuk menyelesaikan sampai akhir mulai dari penulisan proposal, penelitian di laboratorium hingga penulisan skripsi selesai.
6. Mario Febrianto yang selalu memberikan semangat dan doa dengan caranya sendiri mulai dari pembuatan proposal, penelitian di laboratorium hingga penulisan skripsi selesai.

7. Koh Awei, Koh Hengky, Koh Donny, Cik Elke, Cik Evelyn, Koh Atenk, Maya dan pihak-pihak terkait yang telah membantu, dan memberikan saran pada saat penelitian di laboratorium.
8. Teman-teman Penulis; Monica, Menix, Nia, Alde, Agung, Vires, Venez, Dhedhe, Wewen, Lili yang telah menyemangati dan memotivasi penulis agar segera menyelesaikan skripsi.
9. Olyve, Shandy, Arin, Anin, Tya, Vina, Mbep, Kiki 'Conny', Edo, Alvin, Jimmy dan teman-teman FTP 2010 yang telah melewati banyak suka dan duka bersama.
10. Cik Jujuk, Pandu, Mayli, Miranti, Silvinika, Danny, Jason dan teman-teman Kos Kampung Asri yang meningkatkan *mood* penulis serta memotivasi agar segera menyelesaikan penulisan skripsi.
11. Bebek, Tetep, Ruth, Bertha, Yulia dan teman-teman SMU 2012, yang telah memberi banyak pengalaman dan sharing ke penulis agar berpikir jauh ke depan dan lebih dewasa.
12. Seluruh teman-teman FTP angkatan 2007-2012 yang telah memberi saran, kritik, dan membantu Penulis dari awal penelitian sampai penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, berbagai kritik dan saran yang bermanfaat dari para pembaca dan semua pihak sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan pengetahuan bagi para pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, 23 Januari 2014

Penulis,

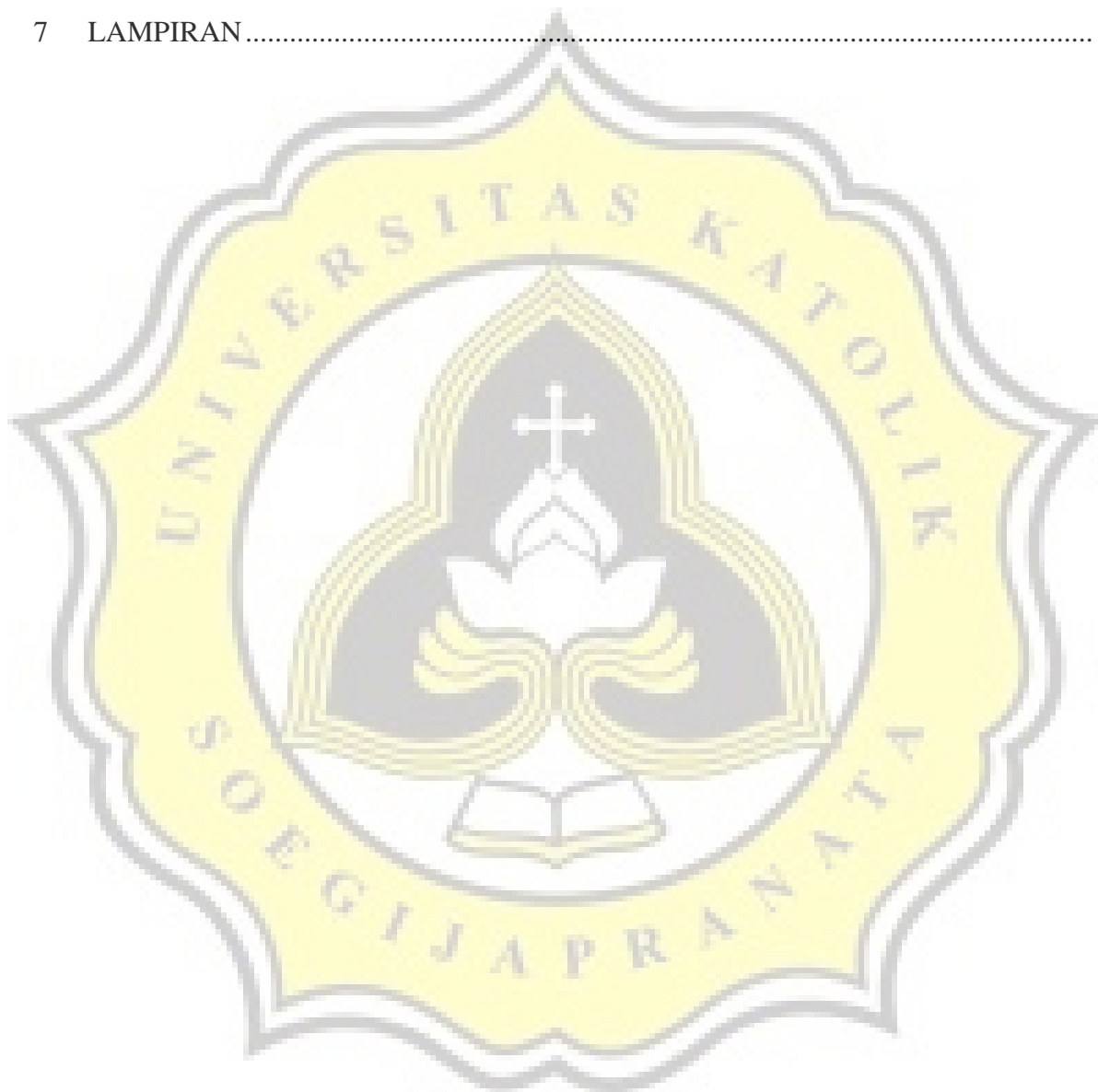
Silviana Mulyo

DAFTAR ISI

Halaman

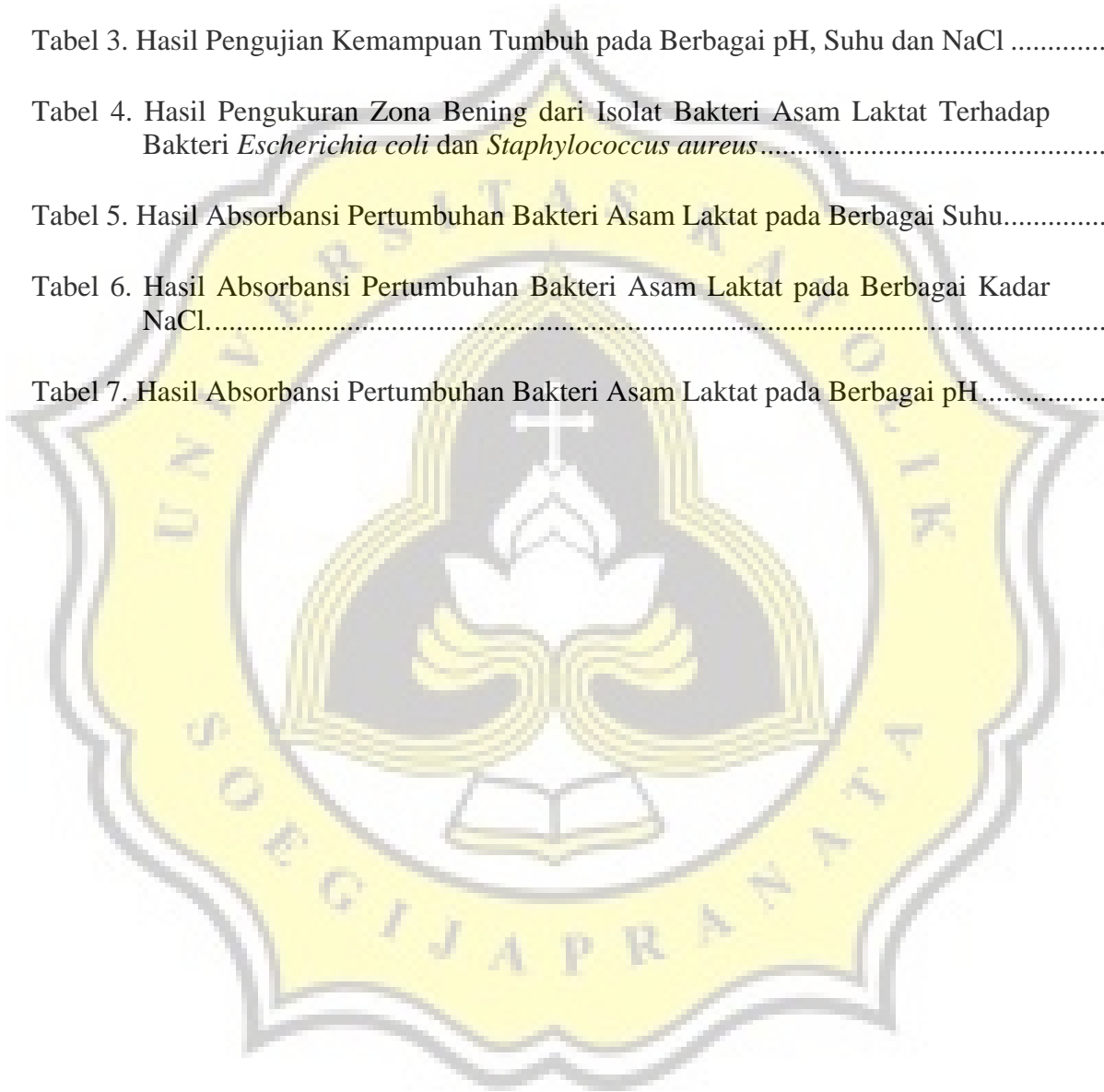
RINGKASAN.....	iv
<i>SUMMARY</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tinjauan Pustaka.....	2
1.2.1 Bakteri Asam Laktat (BAL).....	2
1.2.2 Sawi Pahit dan Sayur Asin.....	9
1.2.3 Senyawa Antimikroba.....	11
1.3 Tujuan Penelitian.....	12
2 MATERI DAN METODE.....	14
2.1 Materi.....	14
2.1.1 Alat.....	14
2.1.2 Bahan.....	14
2.2 Metode.....	15
2.2.1 Pembuatan Sayur Asin.....	15
2.2.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat.....	15
2.2.3 Identifikasi Bakteri Asam Laktat.....	17
2.2.4 Pengujian Aktivitas Antimikrobia.....	19
3 HASIL PENELITIAN.....	21
3.1 Fermentasi Sawi Pahit.....	21
3.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat.....	21
3.2.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat.....	21
3.2.2 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Morfologi dan Tes Biokimia.....	23
3.2.3 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Gram.....	24
3.2.4 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Spora.....	25
3.2.5 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Aktivitas Katalase.....	25
3.2.6 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Motilitas.....	26
3.2.7 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Produksi Gas.....	27
3.2.8 Kemampuan Tumbuh pada Berbagai pH, Suhu dan NaCl.....	28
3.2.9 Aktivitas Antimikroba.....	32
4 PEMBAHASAN.....	35
4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Rendaman Sayur Asin.....	35
4.2 Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Air Rendaman Sayur Asin.....	36

4.3	Pengujian Aktivitas Antimikroba	39
5	KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1	Kesimpulan	42
5.2	Saran	42
6	DAFTAR PUSTAKA	43
7	LAMPIRAN	47



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Sawi Pahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew) (per 100 g)	10
Tabel 2. Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat	23
Tabel 3. Hasil Pengujian Kemampuan Tumbuh pada Berbagai pH, Suhu dan NaCl	28
Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Bening dari Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tabel 5. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu.....	50
Tabel 6. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl.....	51
Tabel 7. Hasil Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai pH.....	52



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Proses biokimia pembentukan asam laktat pada bakteri homofermentatif.....	5
Gambar 2. Proses biokimia pembentukan asam laktat pada bakteri heterofermentatif.....	6
Gambar 3. Tahapan isolasi dan identifikasi serta pengujian aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari sayur asin.....	16
Gambar 4. Sawi pahit sebelum difermentasi (a); Sayur asin yang digunakan sebagai sumber BAL (b).....	21
Gambar 5. Isolat BAL yang membentuk koloni tunggal (tanda panah) dan membentuk zona bening.....	22
Gambar 6. Hasil Pengamatan dengan mikroskop perbesaran 10 x 100 menunjukkan isolat 8 merupakan kelompok bakteri gram positif (sel berwarna ungu).....	24
Gambar 7. Hasil Pengamatan dengan mikroskop perbesaran 10 x 100 menunjukkan isolat 8 memberikan reaksi negatif pada pengecatan spora yang ditunjukkan dengan sel tidak berwarna hijau.....	25
Gambar 8. Isolat BAL tidak memproduksi enzim katalase yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada koloni dan sekitarnya.....	26
Gambar 9. Isolat 15, 16 dan 17 merupakan kelompok bakteri <i>non-motil</i> (tidak bergerak)ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni yang tidak menyebar (tanda panah).....	26
Gambar 10. Isolat 17 yang merupakan kelompok homofermentatif, ditandai dengan tidak adanya gelembung gas pada tabung Durham (a) dan isolat 22 yang merupakan kelompok heterofermentatif, ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung Durham (b).....	27
Gambar 11. Isolat bakteri asam laktat yang dapat tumbuh pada pH 4,4 (a); namun tidak dapat bertahan hidup pada pH 9,6 (b).....	29
Gambar 12. Isolat bakteri asam laktat yang tumbuh pada suhu 10°C (a); 45°C (b); dan 50°C (c).....	30

Gambar 13. Isolat bakteri asam laktat dapat tumbuh pada kadar NaCl 6,5% (a); namun tidak dapat bertahan hidup pada kadar NaCl 18% (b) 31

Gambar 14. Aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap bakteri *Escherichiacoli* dan *Staphylococcusaureus* 32

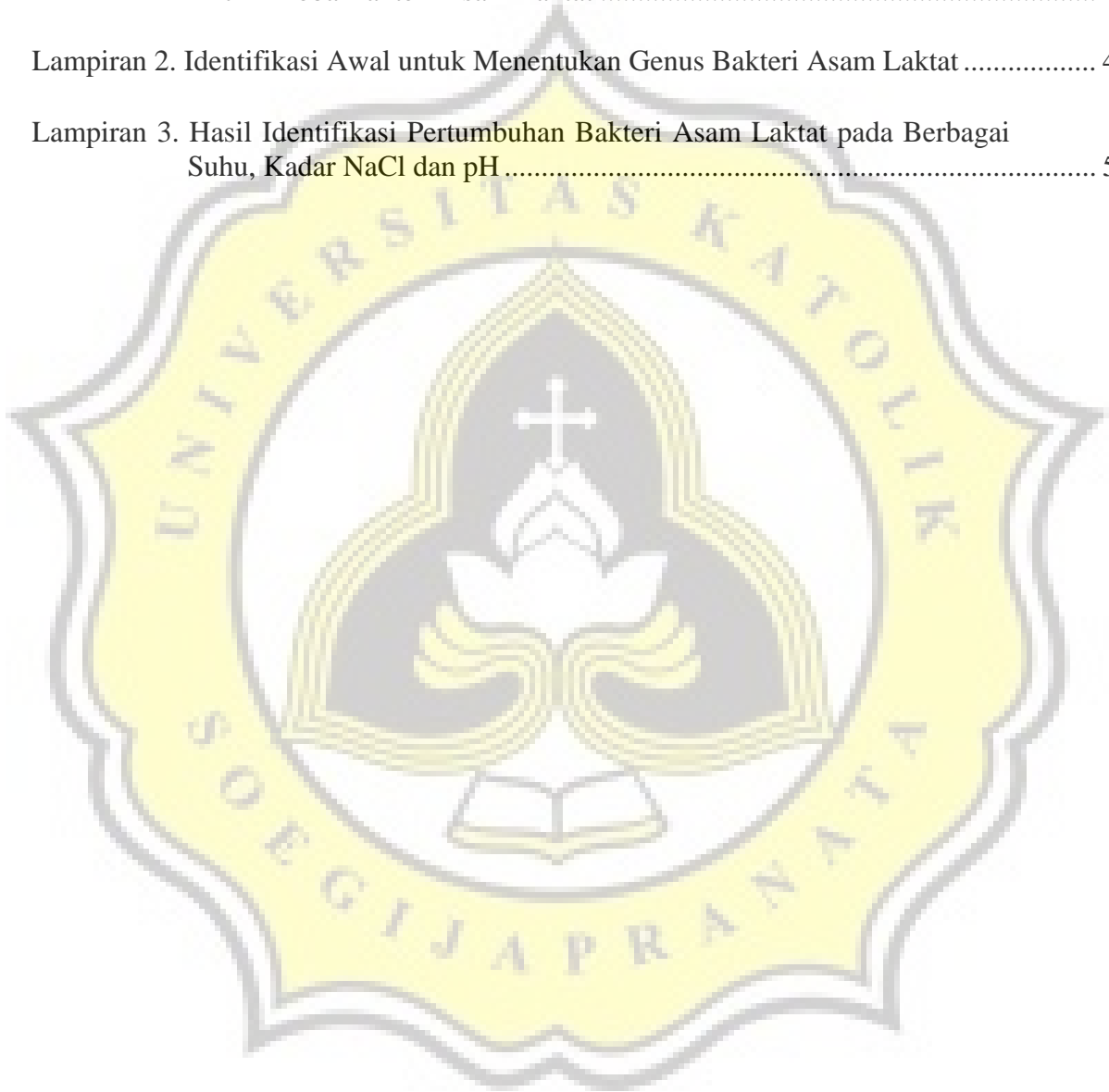
Gambar 15. Hasil aktivitas anti mikroba paling tinggi oleh isolat 21 terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 18,00 mm (a) dan terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 20,16 mm (b), yang ditandai dengan tampaknya zona bening (tanda panah)..... 33

Gambar 16. Jalur identifikasi awal untuk menentukan genus bakteri asam laktat..... 49



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Media yang digunakan untuk Pertumbuhan dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat	47
Lampiran 2. Identifikasi Awal untuk Menentukan Genus Bakteri Asam Laktat	49
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu, Kadar NaCl dan pH	50



RINGKASAN

Bakteri asam laktat (BAL) sering diaplikasikan pada produk pangan karena dapat memperpanjang umur simpan produk, disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan senyawa yang bersifat antagonis terhadap mikroba lain, seperti: bakteriosin, hidrogen peroksida dan diasetil. Bakteri asam laktat dapat ditemukan dalam berbagai makanan fermentasi, contohnya susu, sayur-sayuran dan daging. Salah satu bahan pangan yang dapat menjadi habitat bakteri asam laktat adalah sayur asin. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi bakteri asam laktat dari sayur asin dalam kadar garam 5% yang memiliki kemampuan antimikroba terhadap bakteri patogen, khususnya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pembuatan sayur asin dilakukan dengan cara menambahkan larutan garam 5% sehingga sayur terendam seluruhnya didalam kontainertertutup. Fermentasi berlangsung selama 7 hari dalam suhu ruang. Metode pengujian meliputi isolasi BAL dan pemurnian untuk mendapatkan isolat tunggal BAL; identifikasi BAL; kemampuan tumbuh isolat pada berbagai pH, suhu dan kadar garam NaCl serta pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Isolasi dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan media *deMan Rogosa Sharp Agar* (MRS Agar) + CaCO₃ 1%. Metode identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan menguji karakter morfologikal (bentuk sel, pewarnaan Gram dan pewarnaan spora) dan uji biokimia (produksi gas, uji katalase, uji motilitas) serta uji kemampuan tumbuh isolat pada berbagai pH, suhu dan kadar NaCl. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran (*well-difusion*). Diperoleh 9 isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Lactobacillus*, karena memiliki ciri-ciri yang sesuai, yaitu berbentuk basil, Gram negatif, tidak membentuk spora, katalase negatif, non-motil, dapat tumbuh pada pH 4,4 dan kadar NaCl 6,5%, namun tidak dapat bertahan hidup pada pH 9,6 dan kadar NaCl 18%. Seluruh isolat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian menunjukkan antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dari sayur asin yang difermentasi dalam larutan garam 5% lebih efektif menghambat *S. aureus* daripada *E. coli*. Isolat 21 memiliki kemampuan penghambatan yang paling baik dengan diameter zona bening terhadap *S. aureus* sebesar 20,16 mm dan terhadap *E. coli* sebesar 18,00 mm.

SUMMARY

Lactic acid bacteria (LAB) are often applied to food products, because can extend the shelf life of the product because its ability to produce antagonistic compounds towards other microbes, such as bacteriocins, hydrogen peroxide and diacetyl. Lactic acid bacteria can be found in many fermented foods, such as in milk, vegetables and meat. One of the habitats of lactic acid bacteria is "sayur asin". This study aims to identify the lactic acid bacteria of "sayur asin" in 5% salt concentration which has antimicrobial activity against pathogenic bacteria, especially Escherichia coli (Gram negative) and Staphylococcus aureus (Gram positive). Making "sayur asin" done by adding 5 % brine solution until completely submerged "sawi pahit" in the closed container. The fermentation process lasts for 7 days. The step of this study is isolation and purification LAB to obtain single colony; identification of LAB isolates; the ability to grow at different pH, temperature and NaCl concentration and testing antimicrobial activity against pathogenic bacteria. Isolation and purification is done by using the media deMan Rogosa Sharp Agar (MRS Agar) + 1% CaCO₃. Methods of identification of lactic acid bacteria is done by testing the character morphological (cell shape, Gram staining and spore staining) and biochemical tests (gas production, catalase test, motility test) and test the ability of isolates to grow at different pH, temperature and NaCl concentration. Testing of antimicrobial activity were calculated using "difusi sumuran" (well-Difusion). Nine isolates were identified as Lactobacillus genus, because it has same characteristics, such as bacilli, Gram-negative, non-spore-forming, catalase-negative, non-motile, and able to grow at pH 4.4 and 6.5% NaCl, but it can not survive at pH 9.6 and 18% NaCl concentration. Isolates were able to inhibit the growth of pathogenic bacteria test, namely Staphylococcus aureus and Escherichia coli. The test results showed antimicrobial produced by lactic acid bacteria from "sayur asin" in the 5% salt concentration is more effective at inhibiting S. aureus than E. coli. Isolate 21 has the best inhibitory ability against S. aureus which its diameter of clear zone is 20.16 mm and E. coli 18.00 mm.