

**POTENSI PROBIOTIK *Lactobacillus* YANG DIISOLASI
DARI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL FERMENTASI
KEFIR “GEDONO” DAN VIABILITASNYA PADA
DAGING AYAM OLAHAN**

***POTENTIAL PROBIOTIC Lactobacillus ISOLATED FROM
LACTIC ACID BACTERIA FERMENTED KEFIR
“GEDONO” AND VIABILITY
ON PROCESSED CHICKEN MEAT***

SKRIPSI

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

Oleh:

IKKE NURANASARI

11.70.0092



**Dibiayai Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Tahun 2014**

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

2015

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ikke Nuranasari
NIM : 11.70.0092
Fakultas : Teknologi Pertanian
Program Studi : Teknologi Pangan

menyatakan bahwa skripsi “Potensi Probiotik Lactobacillus yang Diisolasi Dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir “Gedono” dan Viabilitasnya Pada Daging Ayam Olah” 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

Ikke Nuranasari

**POTENSI PROBIOTIK *Lactobacillus* YANG DIISOLASI
DARI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL FERMENTASI
KEFIR “GEDONO” DAN VIABILITASNYA PADA
DAGING AYAM OLAHAN**

***POTENTIAL PROBIOTIC *Lactobacillus* ISOLATED FROM
LACTIC ACID BACTERIA FERMENTED KEFIR
“GEDONO” AND VIABILITY
ON PROCESSED CHICKEN MEAT***

Oleh:

Ikke Nuranasari

NIM : 11.70.0092

Program Studi : Teknologi Pangan

**Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
di hadapan sidang pengujian pada tanggal:**

Semarang, 4 Maret 2015

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.

RINGKASAN

Pola makan *modern* dengan mengonsumsi bahan makanan yang tinggi lemak dan rendah serat merupakan salah satu pemicu munculnya berbagai macam penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan. Kondisi inilah yang membuat masyarakat menyadari akan pentingnya memilih makanan yang dapat memberikan pengaruh yang baik bagi kesehatan. Salah satu contohnya yaitu makanan yang mengandung kultur aktif bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat memiliki kemampuan dalam pembentukan komponen antimikroba yang menyebabkan bakteri asam laktat bermanfaat untuk peningkatan kualitas dan keamanan bahan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap mikroorganisme yang bersifat perusak dan patogen. Probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL) yang mampu mencapai saluran pencernaan dalam jumlah tertentu dan dapat memberi manfaat terhadap kesehatan. Viabilitas merupakan ketahanan hidup suatu organisme dalam kondisi tertentu. Probiotik harus mampu melewati keasaman lambung yang tinggi dan mampu bertahan terhadap sekresi garam empedu dalam usus halus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan probiotik isolat BAL, mengetahui spesies isolat BAL yang memiliki kemampuan antimikroba terbaik terhadap *Escherichia* dan *Staphylococcus aureus*, dan mengetahui viabilitas BAL hasil fermentasi kefir “Gedono” dalam daging ayam olahan selama empat hari penyimpanan di *refrigerator*. Dalam penelitian ini, isolat dari fermentasi kefir “Gedono” diidentifikasi berdasarkan pewarnaan gram, aktivitas katalase dan motilitas. Selanjutnya dilakukan pengujian kemampuan untuk tumbuh pada berbagai kondisi suhu, pH dan konsentrasi NaCl serta dilakukan pengujian probiotik yaitu terhadap garam empedu dan pH asam. Isolat BAL diidentifikasi spesiesnya dan antimikrob kemudian dilakukan pengujian viabilitas BAL dengan pengaplikasian fermentasi daging ayam olahan dibandingkan dengan penambahan nitrit sebagai pengawet kimia. Hasil yang diperoleh genus semua isolat BAL adalah *Lactobacillus* dapat tumbuh pada media garam empedu dan tumbuh pada pH 3 dan pH 7. Semua isolat memiliki kemampuan antimikroba terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa spesies bakteri asam laktat dari isolat 3B11 adalah *Lactobacillus Brevis* sebesar 51,7%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat BAL memiliki viabilitas yang baik pada daging ayam olahan di kepadatan antara 10^6 – 10^8 dengan nitrit sebagai pengawet kimia maupun tanpa nitrit.

SUMMARY

Modern diet by eating foods high in fat and low in fiber is one trigger the emergence of various diseases associated with the gastrointestinal tract. These conditions make the public aware of the importance of choosing foods that can provide a good influence on health. One example is food that contains active cultures of lactic acid bacteria (LAB). Lactic acid bacteria have the ability in the formation of the antimicrobial component which causes lactic acid bacteria useful for improving the quality and safety of food through natural inhibition against microorganisms and pathogen destroyer. Probiotics are generally from the class of lactic acid bacteria (LAB) are able to achieve a certain amount of the digestive tract and may provide health benefits. Viability is the survival of an organism under certain conditions. Probiotics must be able to pass the high acidity of the stomach and able to withstand the secretion of bile salts in the small intestine. The purpose of this study was to determine the ability of probiotic LAB isolates, knowing the species of LAB isolates that have the best antimicrobial capability against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and determine the viability of LAB fermented kefir "Gedono" in processed chicken meat during the four days of storage in the refrigerator. In this study, isolates from fermented kefir "Gedono" identified by Gram stain, catalase activity and motility. Further testing of the ability to grow on various conditions of temperature, pH and NaCl concentration and tested probiotics is to bile salts and acid pH. LAB isolates identified species and antimicrobial then testing the viability of LAB with the application of processed chicken meat fermentation compared to the addition of nitrite as a preservative chemicals. Results obtained genus *Lactobacillus* all isolates of LAB are able to grow on media bile salts and grow at pH 3 and pH 7. All isolates had antimicrobial ability against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Based on this research, it is known that species of lactic acid bacteria isolates 3B11 is *Lactobacillus Brevis* 51,7%. The results showed that all isolates of LAB have good viability in chicken meat processed in kecap dataan between 10^6 - 10^8 with nitrite as a preservative chemicals and without nitrite.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena dengan berkat dan anugerah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul: “Potensi Probiotik *Lactobacillus* yang Diisolasi Dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir “Gedono” dan Viabilitasnya Pada Daging Ayam Olah”. Skripsi ini dibuat dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian, UNIKA Soegijapranata Semarang.

Dalam usaha penulisan laporan skripsi, Penulis tak lepas dari berbagai kesulitan dan hambatan. Akan tetapi dengan bantuan pengarahan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak telah sangat membantu dalam kelancaran skripsi dan penulisan laporan skripsi ini. Maka dari itu, pada kesempatan ini, Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas rahmat dan berkatNya kepada Penulis sehingga pelaksanaan skripsi dan pembuatan laporan skripsi dapat diselesaikan dengan baik.
2. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST., MSc. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.
3. 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 dukungan dan saran dari awal Penulis melakukan penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
4. Ibu Ivonne E. Fernandez, S. Si.,M.Sc selaku coordinator skripsi yang telah membantu, membimbing dan mengarahkan Penulis mengenai skripsi.
5. Mas Soleh, Mas Pri, dan Mbak Endah yang telah membantu, memberikan arahan dan bimbingan serta motivasi kepada Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
6. Seluruh Dosen dan Tenaga Kependidikan Fakultas Teknologi Pertanian Unika Soegijapranata yang telah banyak membantu juga dalam urusan administrasi hingga terselesaikannya skripsi ini.
7. Keluarga tercinta yang telah memberi dukungan doa, semangat, dan memenuhi segala keperluan Penulis selama pelaksanaan skripsi.

8. Reynaldo I.D yang selalu mendoakan, memberi semangat serta dukungan yang luar biasa untuk Penulis. Terima kasih karena selalu ada baik suka maupun duka bagi Penulis.
9. Partner dan sahabat Penulis, Danesh, Monica, Melany, Melita, Vivi, Cynthia, Amadea, Cindy dan Grace yang telah bersama-sama saling memberi semangat dan dukungan serta membantu Penulis saat penelitian di laboratorium hingga penyusunan laporan skripsi.
10. Veronika Christa, Paulina Gandhes, Margaretha Cinthya.D dan Bertha.W serta semua mahasiswa/i Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata Semarang, yang telah membantu memberikan informasi dan bantuan lain.
11. Semua pihak yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu dan memberikan kritik serta saran dalam pelaksanaan skripsi hingga penulisan laporan skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan karena keterbatasan pengetahuan, keterampilan, pengalaman, dan kemampuan Penulis. Sehingga, Penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun dari para pembaca dan semua pihak. Akhir kata, Penulis sangat mengharapkan bahwa laporan ini dapat bermanfaat dan memberikan pengetahuan bagi para pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, Maret 2015,
Penulis,

Ikke Nuranasari

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	3
1.2.1. Bakteri Asam Laktat	3
1.2.2. Spesies Bakteri Asam Laktat dari Kefir	4
1.2.3. Probiotik dan Ketahanannya	5
1.2.4. Daging Ayam	7
1.2.5. Pengawet Kimia Nitrit	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
2.2.1. Bahan	9
2.3. Metode	11
2.3.1. Peremajaan Isolat Bakteri Asam Laktat	11
2.3.2. Pemurnian Bakteri Asam Laktat	11
a. Pewarnaan Gram	11
b. Uji Katalase	11
c. Uji Motilitas	12
2.3.3. Pengujian Bakteri Asam Laktat dan Probiotik	12
2.3.3.1. Optimasi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl, pH dan Suhu	12
a. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Kadar NaCl (6,5% dan 18%)	12
b. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada pH (4,4 dan 9,6)	12
c. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Suhu (10°C, 45°C, dan 50°C)	12
2.3.3.2. Pengujian Probiotik dengan Garam Empedu	13
2.3.3.3. Pengujian Probiotik terhadap pH Asam	13
2.3.3.4. Pengujian Kemampuan Antimikroba Bakteri Asam Laktat ..	13
2.3.3.5. Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan API (Analytical Profile Index) 50 CHL	13
2.3.4. Aplikasi Bakteri Asam Laktat Pada Daging Ayam	14
a. Pembuatan Kultur Starter Probiotik	14

b. Fermentasi Daging Ayam Probiotik	14
c. Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat	15
2.3.5. Pembuatan Kultur Stok	15
3. HASIL PENELITIAN	16
3.1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kefir Gedono	16
3.1.1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Pewarnaan Gram	16
3.1.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Aktivitas Katalase	17
3.1.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Uji Motilitas	18
3.2. Pengujian Bakteri Asam Laktat dan Probiotik	18
3.2.1. Optimasi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl, pH dan Suhu	18
3.2.2. Pengujian Probiotik dengan Garam Empedu	19
3.2.3. Pengujian Probiotik terhadap pH Asam	21
3.2.4. Pengujian Kemampuan Antimikroba Bakteri Asam Laktat	22
3.2.5. Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan API (<i>Analytical Profile Index</i>) 50 CHL	23
3.2.6. Aplikasi Bakteri Asam Laktat Pada Daging Ayam	26
a. Pengujian Viabilitas dengan Kultur Starter Bakteri Asam Laktat..	26
b. Fermentasi Daging Ayam Probiotik	26
c. Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat	27
4. PEMBAHASAN	31
4.1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Gedono	31
4.2. Pengujian Bakteri Asam Laktat dan Probiotik	32
4.2.1. Optimasi Kemampuan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl, pH dan Suhu	32
4.2.2. Pengujian Probiotik dengan Garam Empedu	33
4.2.3. Pengujian Probiotik terhadap pH Asam	34
4.2.4. Pengujian Kemampuan Antimikroba Bakteri Asam Laktat	34
4.2.5. Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan API (<i>Analytical Profile Index</i>) 50 CHL	36
4.2.6. Aplikasi Bakteri Asam Laktat Pada Daging Ayam	37
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan	40
5.2. Saran	40
6. DAFTAR PUSTAKA	41
7. LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

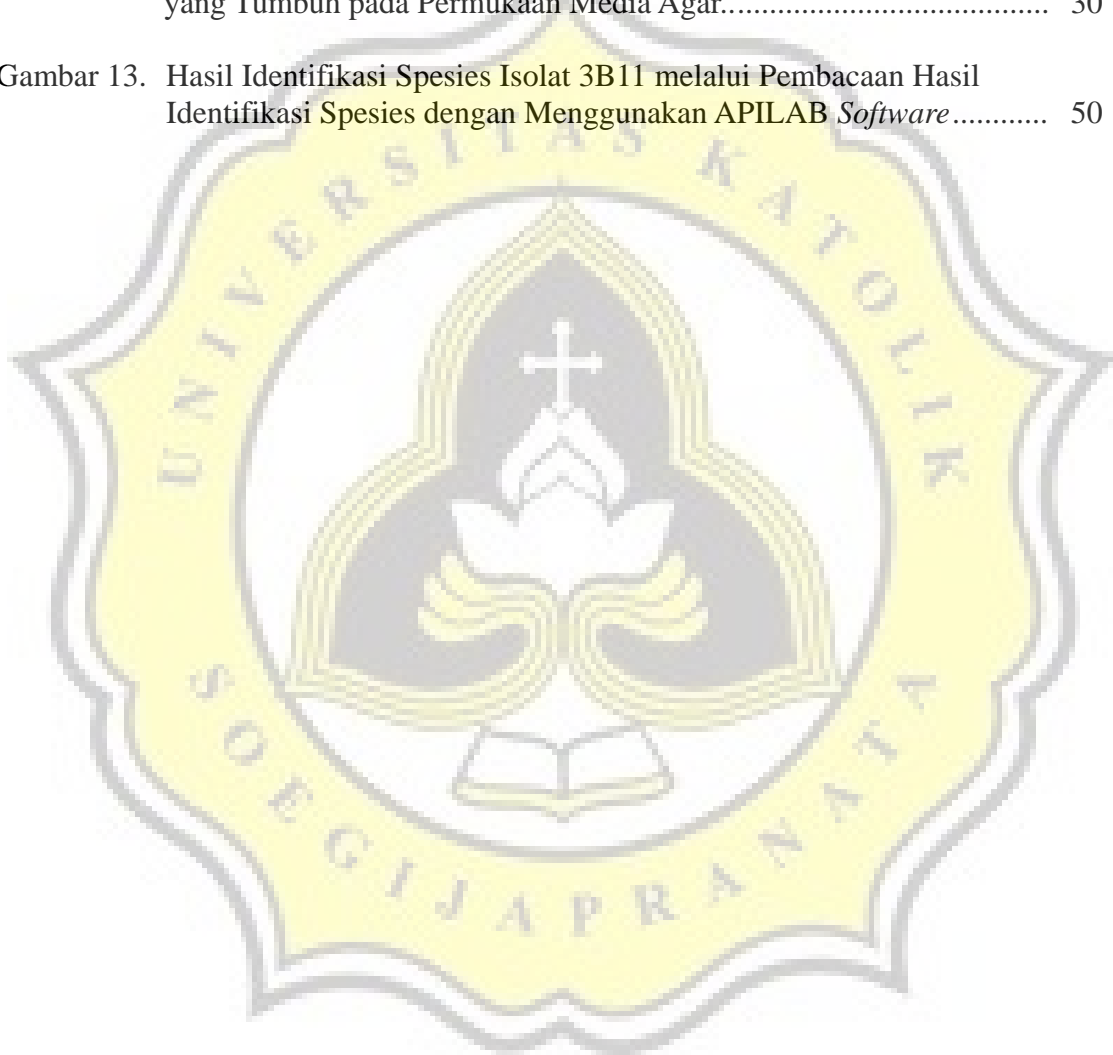
	Halaman
Tabel 1. Hasil Tes Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat yang Diperoleh dari Kefir Gedono	16
Tabel 2. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl, pH dan Suhu	19
Tabel 3. Pengujian Probiotik dengan Garam Empedu.....	20
Tabel 4. Pengujian Probiotik dengan pH Asam	21
Tabel 5. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening dari Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	22
Tabel 6. Kemampuan Tumbuh Isolat 3B11 Pada Sumber Karbon dengan API 50 CHL	24
Tabel 7. Hasil Viabilitas Bakteri Asam Laktat dengan Fermentasi Daging Ayam pada Pengenceran 10^{-8} dari Hari ke-1 sampai ke-4 dengan Pengawet Nitrit dan Tanpa Pengawet Nitrit.....	28
Tabel 8. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl.....	47
Tabel 9. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai pH ...	48
Tabel 10. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Suhu	49

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Diagram Penelitian Terhadap Uji Kemampuan Probiotik dari Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Fermentasi Kefir Gedono	10
Gambar 2. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Isolat 3B11 dengan Mikroskop Perbesaran 40 X 100 Menunjukkan Sel Berwarna Ungu (Bakteri Gram Positif) dan Berbentuk Batang.....	17
Gambar 3. Hasil Uji Katalase dari Isolat 3B11, 3B31, 3B32, 5B31, 5B32 Tidak Memproduksi Enzim Katalase/Katalase Negatif.	17
Gambar 4. Hasil Uji Motilitas Isolat 3B11, 3B31, 3B32, 5B31, 5B32 yang Menunjukkan Pertumbuhan Hanya Terjadi di Daerah Tusukan (Tanda Panah).	18
Gambar 5. Pengujian Kemampuan Probiotik Bakteri Asam Laktat Isolat 3B32 dengan Uji Garam Empedu Pada (a) jam ke-0, (b) jam ke-2 dan (c) jam ke-4 dengan Adanya Pertumbuhan Isolat BAL pada Permukaan Media.	20
Gambar 6. Hasil Uji Ketahanan Isolat Bakteri Asam Laktat 3B32 terhadap pH 3 Pada Jam ke-0 (a), Jam ke-1,5 (b), Jam ke-3 (c) serta pH 7 Pada Jam ke-0 (d), Jam ke-1,5 (e) dan Jam ke-3 (f) yang Ditunjukkan Adanya Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat pada Permukaan Media Agar.	22
Gambar 7. Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat 3B11 terhadap <i>Escherichia coli</i> dengan Diameter Zona Bening (tanda panah) (a) dan Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat 3B11 terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Diameter Zona Bening (tanda panah) (b).....	23
Gambar 8. Pengujian Spesies Bakteri Asam Laktat Isolat 3B11 dengan API 50 CHL Sebelum Diinkubasi (a); Setelah Diinkubasi (b); Hasil Analisa Perubahan Warna Untuk Diidentifikasi Lebih Lanjut dengan API Software (c).....	25
Gambar 9. Hasil Pengujian Viabilitas dengan Kultur Starter Bakteri Asam Laktat dari Isolat 3B11 pada Pengenceran 10^{-8}	26
Gambar 10. Hasil Fermentasi Daging Ayam Probiotik (a) Kontrol – (Tanpa Penambahan Kultur Starter BAL dan Nitrit), (b) Kontrol + (Penambahan Nitrit dan Tanpa Penambahan Kultur Starter BAL), (c) Daging Ayam dengan Penambahan Kultur Starter BAL, (d) Daging Ayam dengan Penambahan Kultur Starter BAL dan Pengawet Nitrit	27

- Gambar 11. Hasil Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat dari Isolat 3B11 dengan Fermentasi Daging Ayam pada Pengenceran 10^{-8} , (a) Hari ke-1 Tanpa Nitrit, (b) Hari ke-2 Tanpa Nitrit, (c) Hari ke-3 Tanpa Nitrit, (d) Hari ke-4 Tanpa Nitrit yang Tumbuh pada Permukaan Media Agar... 29
- Gambar 12. Hasil Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat dari Isolat 3B11 dengan Fermentasi Daging Ayam pada Pengenceran 10^{-8} , (a) Hari ke-1 BAL+ Nitrit, (b) Hari ke-2 BAL+ Nitrit, (c) Hari ke-3 BAL+ Nitrit, (d) Hari ke-4 BAL+ Nitrit. yang Tumbuh pada Permukaan Media Agar..... 30
- Gambar 13. Hasil Identifikasi Spesies Isolat 3B11 melalui Pembacaan Hasil Identifikasi Spesies dengan Menggunakan APILAB *Software*..... 50



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl, Suhu, pH.....	46
Lampiran 2. Hasil Identifikasi Spesies Isolat 3B11 melalui Pembacaan Hasil Identifikasi Spesies dengan Menggunakan APILAB <i>Software</i>	49

