

**IDENTIFIKASI DAN PENGUJIAN AKTIVITAS
ANTIMIKROBA PADA BAKTERI ASAM LAKTAT YANG
DIISOLASI DARI FERMENTASI SAWI PAHIT
(*Brassica juncea*(L.)Czernjaew) PADA SUHU 15°C
DALAM LARUTAN GARAM 5%**

***IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF
LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM
“SAWI PAHIT” (*Brassica juncea*(L.)Czernjaew)
FERMENTED AT 15°C IN 5% OF SALT CONCENTRATION***

SKRIPSI

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

Oleh :

JOHAND WIHARTA PUTRA SINGGIH

10.70.0127



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

2014

**IDENTIFIKASI DAN PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA
PADA BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI
FERMENTASI SAWI PAHIT (*Brassica juncea*(L.)Czernjaew)
PADA SUHU 15°C DALAM LARUTAN GARAM 5%**

*IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID
BACTERIA ISOLATED FROM
“SAWI PAHIT” (*Brassica juncea*(L.) Czernjaew)
FERMENTED AT 15°C IN 5% OF SALT CONCENTRATION*

Oleh:

JOHAND WIHARTA PUTRA SINGGIH

NIM : 10.70.0127

Program Studi : Teknologi Pangan

Laporan Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan
di hadapan sidang penguji pada tanggal
30 Januari 2014

Semarang, 4 Maret 2014

Fakultas Teknologi Pertanian

Program Studi Teknologi Pangan

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

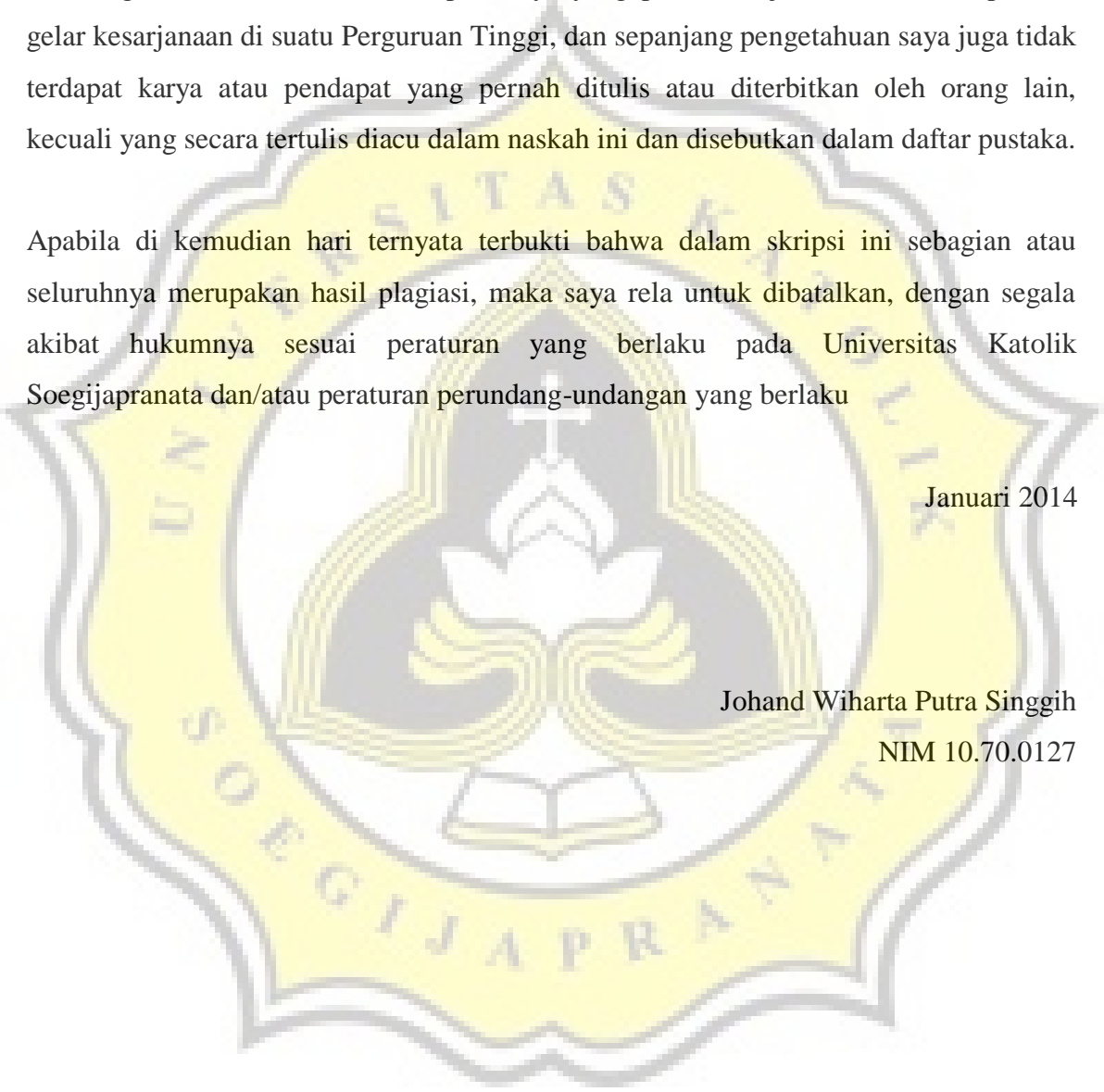
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul “identifikasi dan pengujian aktivitas antimikroba pada bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi sawi pahit (*Brassica juncea* (L).Czernjaew) yang difermentasi pada suhu 15°C dalam larutan garam 5%” ini tidak terdapat karya yang pernah 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

Januari 2014

Johand Wiharta Putra Singgih

NIM 10.70.0127



KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat dan kemurahan serta tuntunan roh kudusNya, Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “identifikasi dan pengujian aktivitas antimikroba dari bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi sawi pahit (*Brassica juncea* (L). *Czernjaew*) pada suhu 15°C dalam larutan garam 5%”. Skripsi ini ditujukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian, UNIKA Soegijapranata Semarang.

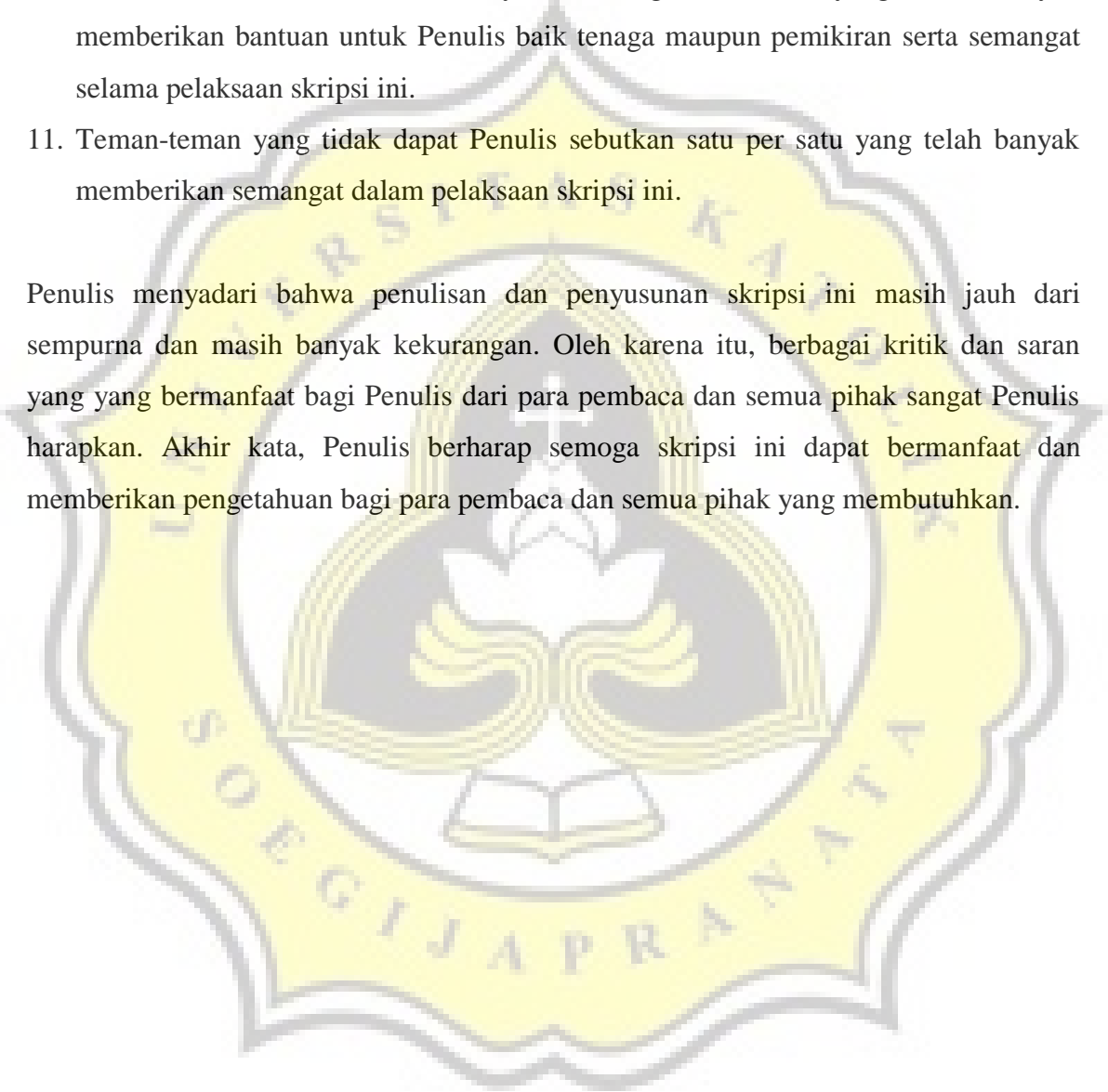
Seluruh kelancaran dan keberhasilan ini pun tentunya tidak terlepas dari bantuan, arahan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST., MSc. sebagai 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 dari awal Penulis melakukan penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
3. Seluruh Dosen, Staff Karyawan, dan Laboran FTP yang telah membantu dan memberi dukungan dan saran selama melakukan penelitian di laboratorium maupun selama penulisan skripsi.
4. Mbak Endah, Mas Pri dan Mas Soleh yang telah membantu dan memberikan arahan serta bimbingan kepada Penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
5. Papah dan Mamah yang selalu memberikan dukungan baik dalam bentuk doa serta semangat selama penelitian serta pembuatan skripsi ini.
6. Rozalind Herlini yang memberikan nasehat untuk menyelesaikan laporan dan menghadapi ujian.
7. Kiki Ria Kristianti yang telah memberikan dukungan semangat, doa, serta selalu setia menemani Penulis saat penyusunan proposal, penelitian di laboratorium, dan saat penyusunan laporan skripsi.
8. Debby, Surya, Silvi, Yaya, Lusi, Aili, Sisca, Kartika, dan Edo sebagai rekan

seperjuangan yang telah menemani, dan memberi dukungan semangat serta selalu bersama-sama dalam pembuatan proposal, pelaksanaan penelitian di laboratorium, dan dalam penyusunan skripsi ini.

9. Koh Awei, Iman, Ramon, Yes'se, Ronald, Nanda, Jimmy, Gio, Biondy yang telah memberikan dukungan dalam suka maupun duka selama pembuatan skripsi ini.
10. Seluruh teman-teman FTP lainnya dari angkatan 2010 yang telah banyak memberikan bantuan untuk Penulis baik tenaga maupun pemikiran serta semangat selama pelaksanaan skripsi ini.
11. Teman-teman yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu yang telah banyak memberikan semangat dalam pelaksanaan skripsi ini.

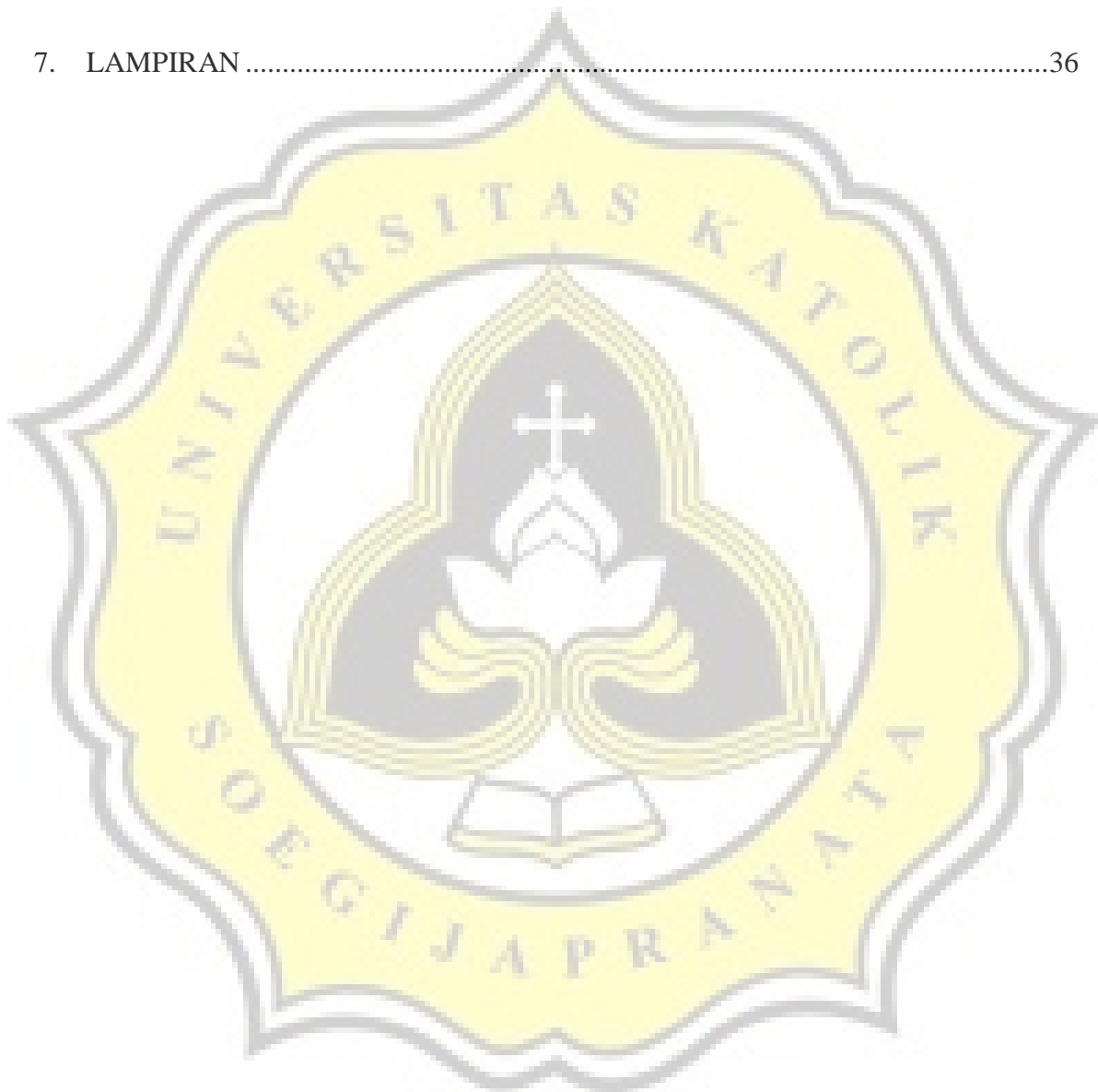
Penulis menyadari bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, berbagai kritik dan saran yang bermanfaat bagi Penulis dari para pembaca dan semua pihak sangat Penulis harapkan. Akhir kata, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat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



DAFTAR ISI

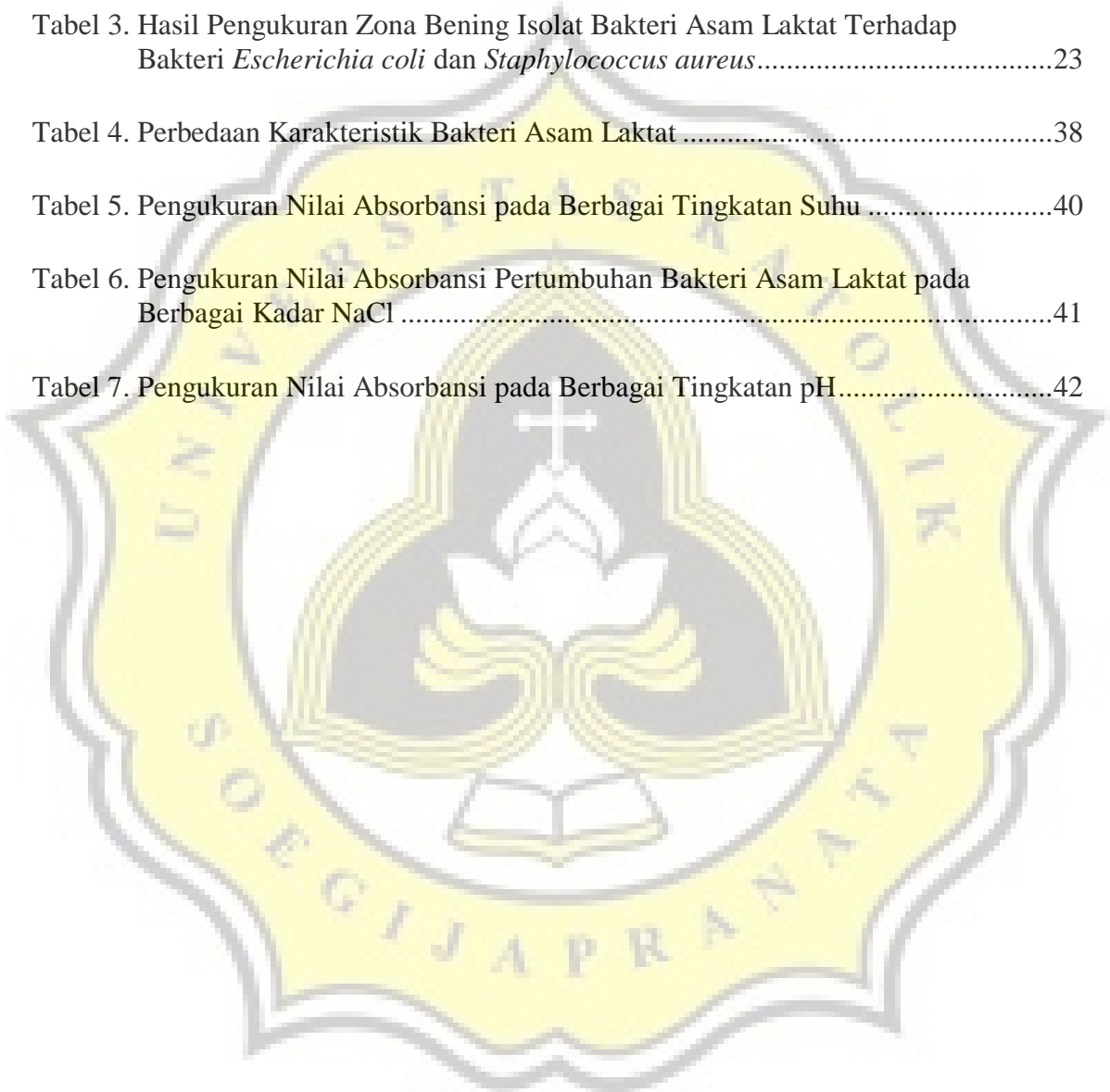
	Halaman
RINGKASAN.....	iv
SUMMARY.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tinjauan Pustaka	2
1.2.1. Bakteri Asam Laktat.....	2
1.2.2. Peranan Bakteri Asam Laktat Sebagai Antimikroba.....	4
1.2.3. Sayur Asin.....	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
2. MATERI DAN METODE	7
2.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	7
2.2. Materi.....	7
2.2.1. Alat.....	7
2.2.2. Bahan.....	7
2.3. Metode	7
2.3.1. Pembuatan Sayur Asin	7
2.3.2. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat.....	8
2.3.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat	10
2.3.4. Uji Kemampuan Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai Tingkatan Suhu, Kadar NaCl, dan pH.....	11
2.3.5. Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	12
3. HASIL PENELITIAN	13
3.1. Fermentasi Sayur Asin.....	13
3.2. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Biokimia.....	13
3.2.1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Gram.....	16
3.2.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Pewarnaan Spora	16
3.2.3. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Aktivitas Katalase	17
3.2.4. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Motilitas.....	17
3.2.5. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Uji Produksi Gas.....	18
3.2.6. Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Suhu, pH, dan NaCl.....	19
3.3. Pengujian Sifat Antimikroba.....	23
4. PEMBAHASAN.....	25
4.1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Sawi Pahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew).....	26
4.1.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat	26

4.1.2. Identifikasi Bakteri Asam Laktat	26
4.2. Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	30
5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1. Kesimpulan	32
5.2. Saran.....	32
6. DAFTAR PUSTAKA.....	33
7. LAMPIRAN	36



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Uji Biokimia Identifikasi Bakteri Asam Laktat.....	15
Tabel 2. Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Suhu, pH, dan Konsentrasi NaCl.....	19
Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Bening Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Tabel 4. Perbedaan Karakteristik Bakteri Asam Laktat	38
Tabel 5. Pengukuran Nilai Absorbansi pada Berbagai Tingkatan Suhu	40
Tabel 6. Pengukuran Nilai Absorbansi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kadar NaCl	41
Tabel 7. Pengukuran Nilai Absorbansi pada Berbagai Tingkatan pH.....	42

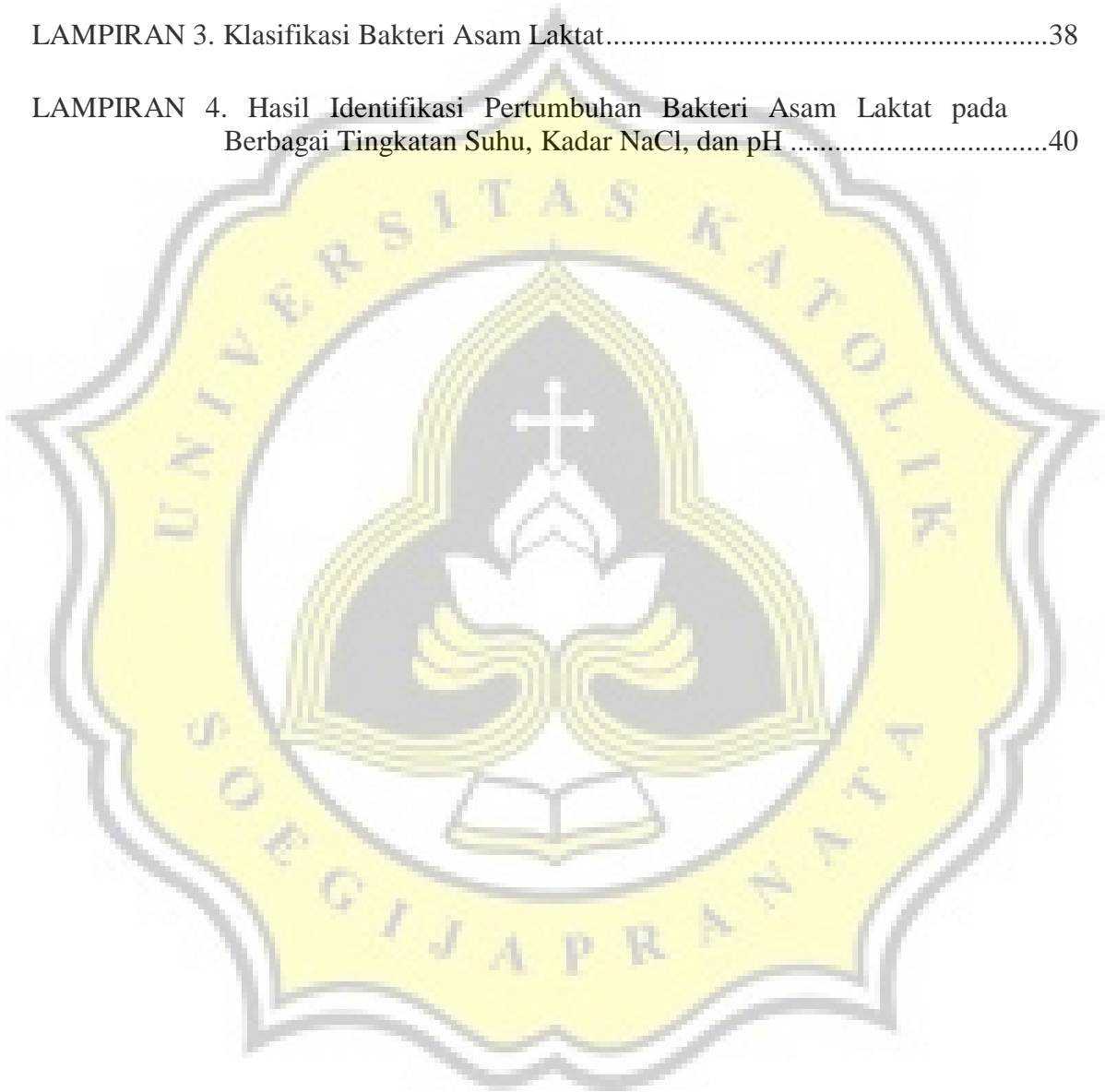


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Perbedaan Jenis Bakteri Asam Laktat Berdasarkan pada Produk Akhirnya (Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn, 2010).....	4
Gambar 2. Proses Isolasi dan Identifikasi BAL dari Sayur Asin	9
Gambar 3. (a) Bahan Baku Pembuatan Sayur Asin (Sawi Pahit (<i>Brassica juncea</i> (L.) Czernjaew), (b) Sayur Asin sebagai Sumber Bakteri Asam Laktat Setelah Fermentasi selama 7 hari.	13
Gambar 4. Pemurnian Isolat yang Membentuk Zona Bening dan Koloni Tunggal pada Isolat 32J (Tanda panah).	14
Gambar 5. Pewarnaan Gram Isolat 32J yang Termasuk Bakteri Gram Positif dengan Mikroskop pada Perbesaran 10x100.	16
Gambar 6. Pewarnaan Spora Isolat 32J yang Berbentuk Batang dan Tidak Membentuk Spora dengan Mikroskop pada Perbesaran 10x100.	17
Gambar 7. Pengujian Aktivitas Katalase Isolat 32J Menunjukkan Nilai Negatif	17
Gambar 8. Pengujian Motilitas Isolat 21J, 12J, dan 32J yang Bersifat Non-motil	18
Gambar 9. Hasil Uji Produksi Gas untuk Isolat 32J dan 42J: (a) Negatif, (b) Positif yang ditandai dengan adanya udara pada tabung Durham (Tanda panah).	18
Gambar 10. Pengujian Kemampuan Tumbuh Pada Suhu 10°C (a), 45°C (b), dan 50°C (c).....	20
Gambar 11. Pengujian Kemampuan Tumbuh pada pH 4,4 (a) dan pH 9,6 (b).	21
Gambar 12. Pengujian Kemampuan Tumbuh pada Konsentrasi NaCl 6,5% (a) dan 18% (b).....	22
Gambar 13. Zona Bening pada Isolat 32J terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> (a) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (b) dengan Zona Bening masing-masing sebesar 15 dan 22,5 mm.....	24

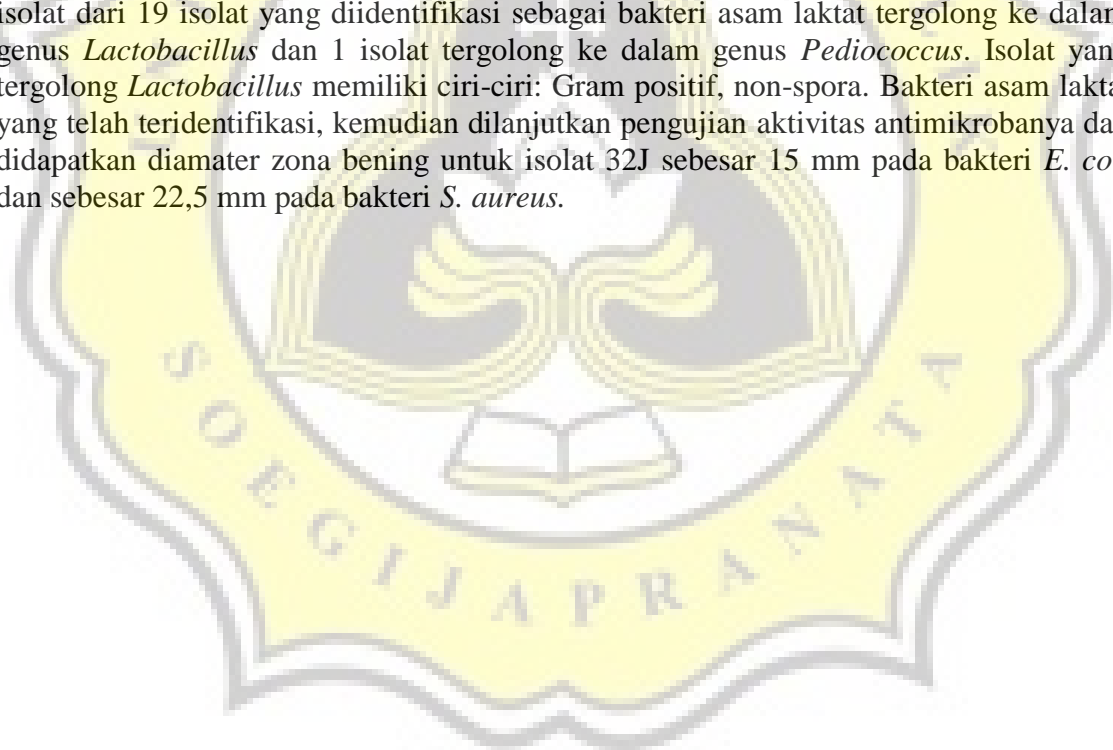
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1. Media yang Digunakan untuk Pertumbuhan dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat.	36
LAMPIRAN 2. Komposisi Larutan Standar McFarland No. 3 dan No. 5	37
LAMPIRAN 3. Klasifikasi Bakteri Asam Laktat.....	38
LAMPIRAN 4. Hasil Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Tingkatan Suhu, Kadar NaCl, dan pH	40



RINGKASAN

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri Gram positif yang mampu memberikan banyak manfaat. Bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa asam-asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang dapat berfungsi sebagai pengawet alami. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari fermentasi spontan sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) yang direndam dengan menggunakan air tajin atau air kelapa dengan konsentrasi garam 5% pada suhu 15^oC di dalam wadah tertutup selama 7 hari. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat yang berasal dari sayur asin yang difermentasi dengan kadar garam 5% serta menyeleksi kemampuan antimikrobanya berdasarkan kemampuan hambatnya terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode pengujian meliputi isolasi, pemurnian, dan identifikasi bakteri asam laktat. Metode identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan uji karakter morfologikal (bentuk sel, pewarnaan spora, dan pewarnaan gram), uji motilitas, uji produksi gas, serta pengujian kemampuan tumbuh dalam berbagai suhu (10^oC, 45^oC, 50^oC), pH (4,4 dan 9,6), dan konsentrasi NaCl (6,5% dan 18%). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sebanyak 11 isolat dari 19 isolat yang diidentifikasi sebagai bakteri asam laktat tergolong ke dalam genus *Lactobacillus* dan 1 isolat tergolong ke dalam genus *Pediococcus*. Isolat yang tergolong *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri: Gram positif, non-spora. Bakteri asam laktat yang telah teridentifikasi, kemudian dilanjutkan pengujian aktivitas antimikrobanya dan didapatkan diameter zona bening untuk isolat 32J sebesar 15 mm pada bakteri *E. coli* dan sebesar 22,5 mm pada bakteri *S. aureus*.



SUMMARY

*Lactic acid bacteria are a group of Gram-positive bacteria are able to provide many benefits. Lactic acid bacteria are capable of producing compounds of organic acids, hydrogen peroxide, and bacteriocins which can serve as a natural preservative. Lactic acid bacteria can be obtained from the spontaneous fermentation of sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czernjaew) were soaked with water starch or coconut water with a salt concentration of 5% at a temperature of 15⁰C in a closed container for 7 days. The purpose of this study was to isolate and identify lactic acid bacteria derived from fermented salted vegetable with 5 % salt content and selecting antimicrobial capabilities based inhibitory ability against pathogenic bacterial *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Test methods include isolation, purification, and identification of lactic acid bacteria. Methods of identification of lactic acid bacteria is done with test morphological characteristics (shape of the cell, spore and Gram staining), motility test, test gas production, as well as testing the ability to grow in a wide range of temperatures (10°C, 45°C, 50°C), pH (4,4 and 9,6), and NaCl concentration (6.5% and 18 %). The results indicate that as many as 11 isolates from 19 isolates were identified as lactic acid bacteria belonging to the genus *Lactobacillus* and 1 isolates belong to the genus *Pediococcus*. Lactic acid bacteria have been identified and then tested their antimicrobial activity and the resulting diameter of clear zone from isolates 32J is 15 mm for the bacteria *E. coli* and 22.5 mm for *S. aureus*.*

