

**UJI DAYA ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
KEFIR TERHADAP *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli***

(Skripsi)

**Oleh
Agung Setia Ningsih**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

UJI DAYA ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KEFIR SUSU KEDELAI DAN KEFIR SUSU SAPI TERHADAP *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli*

Oleh
Agung Setia Ningsih

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari kefir susu sapi dan susu kedelai terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu isolasi dan identifikasi BAL kefir, produksi zat antibakteri dari isolat, menguji daya hambat isolat antibakteri BAL terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli*, dan menghitung luas zona hambat antibakteri BAL. Hasil penelitian menunjukkan Keenam Isolat bakteri asam laktat dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* dalam kondisi asam dan netral, hal ini membuktikan bahwa isolat BAL dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi tidak hanya memiliki kandungan asam organik namun juga memiliki kandungan lain seperti hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin. Kemampuan isolat BAL kefir setelah dianalisis secara statistik dengan one way anova $\alpha = 0,05$ tidak memiliki perbedaan nyata ($p > 0,05$) terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* baik dalam kondisi asam maupun dalam kondisi netral. Dan jika dilihat dari rata – rata kedua kelompok tersebut , dalam kondisi asam isolat BAL kefir susu kedelai memiliki rata-rata terbesar sedangkan isolat BAL kefir susu sapi memiliki rata-rata terbesar dalam kondisi netral. Pada *Bacillus* sp. dalam kondisi asam luas zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 3,16 ; 3,39; 2,06 dan SA1-SA3 adalah 1,86; 1,39; 1,96. Dalam kondisi netral zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 1,39; 1,49; 1,66 dan SA1-SA3 adalah 1,63; 1,69; 1,86. Sementara pada *Escherecia coli* dalam kondisi asam luas zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 3,51; 2,93; 2,66 dan SA1-SA3 adalah 1,83; 2,46; 2,46. Dalam kondisi netral zona hambat KE1-KE3 berturut-turut adalah 1,59; 2,33; 1,99 dan SA1-SA2 adalah 1,49; 2,49; 2,39.

Kata kunci : Kefir, Bakteri Asam Laktat, Antibakteri, *Bacillus* sp. , *Escherichia coli*

**UJI DAYA ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
KEFIR TERHADAP *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli***

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat mencapai gelar
SARJANA SAINS**

**Pada
Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Oleh
Agung Setia Ningsih**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **UJI DAYA ANTIBAKTERI ISOLAT
BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KEFIR
TERHADAP *Bacillus* sp. DAN
*Escherichia coli***

Nama Mahasiswa : **Agung Setia Ningsih**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1417021004

Jurusan : Biologi

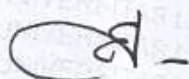
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

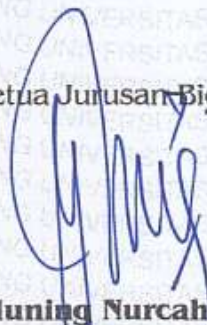


Dra. C.N. Ekowati, M.Si.
NIP 19580818 198503 2 001



Dr. Sumardi, M.Si.
NIP 19650325 199103 1 003

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Dra. C.N. Ekowati, M.Si.**



Sekretaris

: **Dr. Sumardi, M.Si.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Ir. Salman Farisi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Sr., D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Juni 2018

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Gunung Pasir Jaya, 19 Juni 1995. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Samidjo dan Ibu Sunarsih.

Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak – kanak Kristen 12 Gunung Pasir Jaya pada tahun 2001. Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri Gunung Pasir Jaya, Lampung Timur pada tahun 2002 dan diselesaikan pada tahun 2008, dilanjutkan dengan pendidikan menengah di SMP Lentera Harapan Jati Agung, Lampung Selatan. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono, Lampung Timur.

Pada tahun 2014 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung Melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama perkuliahan penulis pernah menjadi asisten pada Matakuliah Mikrobiologi Umum, Fisiologi Tumbuhan, Mikrobiologi Tanah Dan Mikrobiologi Lingkungan. Penulis juga aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA UNILA sebagai sekretaris bidang sains dan teknologi 2016-2017.

Penulis melaksanakan kuliah kerja nyata di Desa Indra Putra Subing Lampung Tengah Pada Januari – Februari 2017 dan melaksanakan kerja praktik di Southeast Asian Regional Centre For Tropical Biology Bogor pada Juli – Agustus 2017 dengan judul “**Uji Total Koliform Pada Air Limbah Domestik dan Koliform Fekal Pada Air Sungai di Laboratorium Air dan Udara**”.

PERSEMBAHAN

Puji Tuhan atas segala karunia, kelimpahan dan rahmat-Nya

Kupersembahkan karya kecilku ini kepada :

*Orangtuaku, bapak dan ibu tercinta yang selalu memberi
dukungan dalam hal apapun dan tidak pernah lupa
menyebut namaku dalam doanya.*

*Kakak dan adikku tersayang yang mewarnai hari - hariku,
memotivasi dan menyemangatiku untuk terus berkarya.*

MOTTO

“Takut akan Tuhan adalah didikan yang mendatangkan hikmat, dan kerendahan hati mendahului kehormatan.”

(Amsal 15 : 33)

“Ingatlah akan penciptamu pada masa mudamu, sebelum tiba hari – hari yang malang dan mendekat tahun – tahun yang kaukatakan: “tak ada kesenangan bagiku di dalamnya!”

(Pengkhotbah 12 :1)

“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apa pun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur. “

(Filipi 4 : 6)

“Janganlah seorang pun menganggap engkau rendah karena engkau muda. Jadilah teladan bagi orang – orang percaya, dalam perkataanmu, dalam tingkah lakumu, dalam kasihmu, dalam kesetiaanmu, dan dalam kesucianmu.”

(1 Timotius 4 :12)

SANWACANA

Puji Syukur Penulis ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena kasih dan karunia-Nya skripsi dapat diselesaikan tepat pada waktunya, dengan judul **“Uji Daya Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir terhadap *Bacillus sp.* dan *Escherichia coli*”**

Penulis menyadari bahwa banyak sekali bantuan yang penulis dapatkan selama mengerjakan skripsi. Dengan terselesaikan skripsi ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada :

1. Kedua orang tuaku terkasih yang tiada hentinya berdoa, memberi perhatian, dukungan dan semangat.
2. Bang Agung dan adik ku Algi yang selalu berbagi kasih dalam suka dan duka.
3. Ibu Dra. C. N. Ekowati, M.Si. selaku Pembimbing I yang telah membimbing dengan sabar, memberi masukan, kritik dan saran, kepada penulis hingga terselesainya skripsi ini.
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku Pembimbing II yang telah dengan sabar membimbing, memberi motivasi dan berbagi ilmu serta membantu penulis selama proses menyelesaikan skripsi.

5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Pembahas atas semua ilmu, bimbingan, motivasi dan saran dalam proses penyelesaian skripsi.
6. Ibu Emantis rosa, M.biomed., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberi bimbingan selama perkuliahan.
7. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak ibu Dosen dan Staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan.
10. Bapak Glompong dan Ibu Sulistyaningsih, Mbah Tyas, Mba Dyah, Satria, dan Mba Oppa, Mba Ayu dan seluruh keluarga besar atas bantuan, dukungan dan motivasi.
11. Citta dan Ella yang selalu setia mendengarkan keluh kesah dan memberikan semangat.
12. Team penelitian bananaku, Benny, Diana, Ketut, dan Rosma serta team Komang ,Rizka, Nandia ,Milsa, Sumin dan Risma.
13. My Odd Happines Lover, Benny, Ketut, Komang, Rosma, Theo atas canda tawa dan hiburan kalian.
14. Jashinda ,Indri, Titin, Kak Oman, Kak Yovita, Kak Maria, Yuri, Noe, Zulpa, Meli, Lia, Ting-Ting, Farah, Putu, Uyun, Suwita, dan Octa, yang telah berbagi motivasi, dukungan dan saran.

15. Teman 40 hari KKN Indra Putra subing, Melva, Rahma, Shinta, Aken,
Hiro dan Yandi.

16. *Microholic* 14 dan Biologi 14 terimakasih banyak atas kebersamaannya.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan banyak kekurangan, saran dan kritik yang bersifat membangun dari setiap pembaca sangat penulis harapkan demi kesempurnaan laporan ini. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Juli 2018

Penulis,

Agung Setia Ningsih

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian	3
D. Kerangka Pemikiran	4
E. Hipotesis	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kefir	6
B. Bakteri Asam Laktat	7
C. Antibakteri	8
D. <i>Bacillus sp</i>	10
E. <i>Escherichia coli</i>	10

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat	12
B. Alat dan Bahan	12
C. Metode Penelitian	13
D. Analisis Data	13
E. Prosedur Kerja	14
F. Diagram Alir	17

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kedelai dan Kefir Susu Sapi Secara Morfologi dan Fisiologi	18
B. Indeks Daya Hambat Antibakteri Isolat BAL Kefir Terhadap <i>Bacillus sp.</i> dan <i>Escherichia coli</i>	19

V. KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Morfologi Koloni BAL dari Kefir Susu Kedelai dan Kefir Susu Sapi.....	18
Tabel 2. Morfologi Sel dan Sifat Fisiologis BAL dari Kefir Susu Kedelai dan Kefir Susu Sapi	19
Tabel 3. Luas Zona Hambat Isolat BAL Kefir dalam Kondisi Asam dan Netral terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Escherichia coli</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perhitungan Luas Zona Hambat	16
Gambar 2. Diagram Alir Isolasi dan Uji Daya Antibakteri BAL terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Escherichia coli</i>	17
Gambar 3. Indeks Daya Hambat Antibakteri BAL Kefir terhadap <i>Bacillus</i> sp.	22
Gambar 4. Indeks Daya Hambat Antibakteri BAL Kefir dalam Kondisi Netral	22
Gambar 5. Kontrol terhadap <i>Bacillus</i> sp.	39
Gambar 6. Kontrol terhadap <i>E. coli</i>	39
Gambar 7. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Kedelai dalam Kondisi Asam terhadap <i>E. coli</i>	40
Gambar 8. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Kedelai dalam Kondisi Asam terhadap <i>Bacillus</i> sp.	40
Gambar 9. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Sapi dalam Kondisi Asam terhadap <i>Bacillus</i> sp.	41
Gambar 10. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Sapi dalam Kondisi Asam terhadap <i>E. coli</i>	41
Gambar 11. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Kedelai Dalam Kondisi Netral terhadap <i>E. coli</i>	42
Gambar 12. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Kedelai dalam Kondisi Netral terhadap <i>Bacillus</i> sp.	42
Gambar 13. Zona Hambat Isolat BAL Kefir Susu Sapi dalam Kondisi Netral terhadap <i>E.coli</i>	43

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kefir salah satu produk susu fermentasi yang mulai digemari masyarakat karena mengandung bakteri probiotik yang menyehatkan tubuh. Kefir merupakan susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yogurt dan memiliki aroma khas *yeasty* (seperti tape) (Usmiati, 2007).

Kefir merupakan produk fermentasi dari susu hewani atau susu kedelai menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (kefir *grain*/kefir *granule*) yang terdiri dari berbagai kumpulan bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli*, *Streptococcus* sp., *Lactococcus*, dan beberapa jenis ragi/khamir nonpatogen. Menurut penelitian Sujaya *et al* (2002) bakteri asam laktat (BAL) juga terdapat pada ragi tape antara lain *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Weissella confusa*, dan *Weissella paramesenteroides* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa.

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-senyawa asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain.

Senyawa-senyawa lain diantaranya H_2O_2 , diasetil dan bakteriosin dalam jumlah yang relatif sedikit dibandingkan dengan produksi asam organik, sehingga BAL dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri (Kusmiati, 2002).

Rachmawati *et al.* (2005) menjelaskan bahwa BAL yang berasal dari asinan sawi mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian Lumbangaol (2015) dihasilkan BAL dari tempoyak mampu menjadi pengawet hayati daging sapi dan ayam potong. Isolat bakteri asam laktat (BAL) dari bekasam ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp.* (Nurohman, 2016).

Susu fermentasi menghasilkan zat antibakteri yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan respon daya hambat yang bervariasi, hal ini dipengaruhi oleh bahan dan bakteri yang digunakan. Menurut Nurdiana (2002) dalam penelitiannya juga menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri yogurt yang terbesar adalah terhadap bakteri uji *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri yang kurang sensitif adalah bakteri Gram positif dari jenis *Bacillus*. Menurut Poeloengan (2008) *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang paling sensitif terhadap antimikroba yogurt, kedua produk dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,07 mm.

Lindawati *et al.* (2010) melaporkan bahwa susu fermentasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif dan Gram negatif secara *in vitro*. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya kefir dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (Khikmah, 2015; Michael *et al* 2014; Suhartanti, 2014). Untuk itu perlu dilakukan penelitian uji daya antibakteri isolat bakteri asam laktat (BAL) dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi terhadap *Bacillus sp.* dan *Escherichia coli*.

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari kefir susu sapi dan susu kedelai terhadap *Bacillus sp.* dan *Escherichia coli*

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah dan bahan kajian mengenai uji antibakteri isolat bakteri asam laktat (BAL) dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi terhadap *Bacillus sp.* dan *Escherichia coli*. Serta memberi informasi kepada masyarakat bahwa kefir merupakan produk fermentasi yang menyehatkan.

D. Kerangka Pikir

Kefir merupakan susu fermentasi yang aroma dan rasa khas *yeasty* yang berpotensi sebagai antibakteri dikarenakan hasil fermentasi dari kefir yaitu bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat telah lama dikenal sebagai kelompok bakteri yang menguntungkan. Bakteri asam laktat memiliki sifat antibakteri,

aktivitas antikolestrol, efek stimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare, dan aktivitas antimutagenik sehingga dapat mencegah penyakit kanker usus (Fuller, 1992; Surono, 2004; dan Hill, 1995).

Widodo (2003) menyatakan bahwa kefir menghasilkan zat antibakteri berupa asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil, asetaldehid, karbondioksida, alkohol, dan bakteriosin. Efek dari zat antibakteri dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membran sel, enzim-enzim, dan protein struktural. Menurut Pelczar dan Chan (2005) menyatakan bahwa cara kerja senyawa antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme yaitu dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sel, kerusakan sitoplasma, menghambat kerja enzim serta menghambat sintesis asam nukleat protein.

Penghambatan kultur bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen disebabkan aktivitas kultur yang didukung oleh asam dan komponen-komponen metabolit yang dihasilkan Rahmawati *et al* (2005) Menurut Alokami *et al* (2000) asam organik yang dihasilkan menyebabkan penurunan pH dan menyebabkan sitoplasma sel menjadi asam, mengacaukan potensial transmembran dan menghambat transport substrat.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu isolat BAL dari kefir susu sapi dan susu kedelai memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli*

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kefir

Menurut BBPascapanen (2007) kefir merupakan susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yogurt dan memiliki aroma khas *yeasty* (seperti tape). Albaarri dan Murti (2003) berpendapat tentang kefir, yaitu produk susu yang difermentasikan dengan menggunakan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus bulgaricus* bersama ragi dan menghasilkan asam dan alkohol. Pada tahap akhir proses dilakukan pematangan dalam kemasan tertutup agar terbentuk karbonat.

Pada umumnya susu hewani digunakan sebagai bahan dasar, pembuatan kefir hewani merupakan produk susu fermentasi dapat dibuat dari bahan baku susu sapi, susu kambing atau susu domba dengan menambahkan bibit kefir (kefir *grains*) yang terdiri dari bakteri asam laktat dan khamir. Namun bagi penderita *Lactose intolerance* dan penderita alergi terhadap protein susu sapi dapat digunakan susu nabati sebagai bahan dasar kefir (Koswara,2006).

Kefir berasal dari Kaukasian sebelah utara atau sebelah Timur Laut Mongolia, dan telah diproduksi dalam skala rumah tangga secara tradisional. Bahan untuk pembuatan kefir biasanya adalah susu sapi atau susu kambing. Kefir diproduksi di negara - negara di Rusia dan hanya sedikit diproduksi di negara-negara Eropa. Kefir mengandung 0.5-1,0 % alkohol dan 0,9-1,1 % asam laktat (Suroño, 2004).

Nilai gizi kefir hampir sama dengan susu yang digunakan sebagai bahan kefir tetapi ada beberapa kelebihan apabila dibandingkan dengan susu segar. Kelebihan tersebut adalah asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan patogen sehingga meningkatkan keamanan produk kefir (Kunaepah, 2008).

B. BAL

Bakteri asam laktat (BAL) dikelompokkan sebagai bakteri gram positif, bentuk kokus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. BAL terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* atau biasa disebut BAL atau *L. Bulgaricus*. (Malaka, dan Laga 2005).

BAL merupakan bakteri yang memproduksi berbagai komponen bermassa molekul rendah seperti asam, alkohol, karbon dioksida, diasetil, hidrogen peroksida, reutrin, dan bakteriosin (Dikeman dan Davine, 2014).

BAL dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri *homofermentatif* dan bakteri *heterofermentatif*. Bakteri asam laktat yang menghasilkan dua molekul asam laktat dari fermentasi glukosa termasuk di dalam kelompok bakteri asam laktat bersifat homofermentatif, sedangkan bakteri asam laktat yang menghasilkan satu molekul asam laktat dan satu molekul etanol serta satu molekul karbon dioksida dikenal dalam kelompok bakteri asam laktat bersifat heterofermentatif (Reddy *et al.*, 2008).

C. Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat atau komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal atau fungisidal). Zat aktif yang terkandung dalam bakteri asam laktat dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*.

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa-senyawa tertentu selain asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya H₂O, diasetil dan bakteriosin dalam jumlah yang relatif sedikit dibandingkan dengan produksi asam organik (Kusmiati, 2002).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri antara lain disebabkan oleh beberapa faktor antara lain :

1. Mengganggu pembentukan dinding sel, mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Efek penghambatan senyawa antibakteri lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut.
2. Menginaktivasi enzim, mekanisme yang terjadi menunjukkan kerja enzim terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk aktivitasnya. Akibatnya energi untuk pertumbuhan menjadi berkurang, sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat dan inaktif apabila berlangsung lama.
3. Bereaksi dengan membran sel, mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraseluler.
4. Menginaktivasi fungsi material genetik, merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel untuk pembiakan.
(Kunaepah, 2008).

D. *Bacillus* sp.

Bacillus sp. merupakan salah satu jenis mikroba patogen yang dapat menyebabkan penyakit dan intoksikasi pada manusia dan juga dapat menyebabkan kerusakan produk. Bakteri ini terdapat di segala tempat yaitu di air, tanah dan udara dan dapat mengkontaminasi produk makanan. Mengingat akibat yang ditimbulkan maka keberadaan bakteri ini pada produk perlu dihindari (Onibala, 2013).

Bacillus sp. merupakan bakteri berbentuk batang, dengan ukuran 0,3-2,2 μm x 127-7,0 μm . Sebagian besar *Bacillus* sp. Bersifat motil, bergerak dengan flagelum lateral yang khas. Dalam keadaan lingkungan yang tidak mendukung biasanya bakteri ini membentuk endospora. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif, dengan sifat kemoheterotrof yaitu, organisme yang memperoleh sumber energinya dari senyawa kimia, sedangkan sumber nutrisi untuk metabolismenya berasal dari bahan organik (Pelczar dan Chan, 2005).

E. *Escherchia coli*

Theodor Escherich yang pertama kali mengidentifikasi *E. coli* tahun 1885 dari babi yang menderita enteritis. Enteritis merupakan peradangan usus yang bisa menyebabkan sakit perut, mual, muntah, dan diare baik manusia maupun hewan. *E. coli* merupakan bakteri yang bisa hidup pada lingkungan yang berbeda. Bakteri ini dapat ditemukan di tanah, air, tanaman, hewan, dan manusia (Berg, 2004; Manning, 2010).

E. coli merupakan bakteri komensal yang bersifat patogen dan merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Kebanyakan *E. coli* memiliki virulensi yang rendah dan bersifat oportunistik. *E. coli* tidak tahan terhadap keadaan kering atau desinfektan biasa. Bakteri ini akan mati pada suhu 60°C selama 30 menit.

Secara morfologi *E. coli* berbentuk batang pendek, gemuk, berukuran 2,4 µ x 0,4 µ sampai 0,7 µ, gram negatif, bergerak aktif dan tidak berspora. *E. coli* bersifat katalase positif, oksidasi negatif, dan fermentatif. *E. coli* termasuk bakteri mesofilik dengan suhu pertumbuhannya dari 7 °C sampai 50 °C dan suhu optimum sekitar 37 °C. *E. coli* dapat tumbuh pada pH 4-9 dengan aktivitas air 0.935. Laju pertumbuhan *E. coli* yaitu 25 jam/generasi pada suhu 37 °C (Forsythe, 2000).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2018 sampai dengan bulan Maret 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, mikrotip 1ml, gelas beaker, botol semprot, erlenmeyer, gelas ukur, oven, inkubator, pH meter, timbangan digital, *shaker incubator*, *laminar air flow cabinet*, *autoclave*, *hot plate magnetic stirrer*, *centrifuge*, *water bath*, *vortex mixer*, aluminium foil, jarum ose.

Bahan yang digunakan yaitu isolat BAL dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi, MRSA (*De Man Rogosa and Sharpe Agar*, *MRS Broth (De Man Rogosa and Sharpe Broth)*), NA (*Nutrient Agar*), alkohol, aquades, isolat *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif untuk mengetahui karakter isolat BAL dan kuantitatif untuk mengetahui kemampuan antibakteri dari isolat BAL kefir. Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu isolasi dan identifikasi BAL kefir, produksi zat antibakteri dari isolat, uji daya hambat antibakteri BAL terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli*, dan perhitungan luas zona hambat antibakteri BAL. Daya hambat ditentukan berdasarkan luas zona jernih dengan metode difusi sumur. Besarnya kemampuan hambatan dari antibakteri terhadap pertumbuhan *Bacillus* sp. dan *Escherecia coli* ditunjukkan dengan luas zona jernih yang terbentuk disekitar sumur (Harley dan Prescott, 2002)

D. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA (*analysis of variance*) untuk mengetahui perbedaan zona jernih yang terbentuk terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherechia coli*.

E. Prosedur Kerja

1. Isolasi BAL dari Kefir

Isolasi BAL dari kefir dilakukan dengan metode *streak plate* kuadran. Satu ose kefir susu sapi dan susu kedelai digoreskan pada permukaan media MRS agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah 24 jam diidentifikasi koloni bakteri meliputi bentuk, warna, dan margin. Serta pengamatan sifat fisiologis meliputi uji motilitas, uji katalase, dan pengecatan Gram dan spora.

2. Produksi Antibakteri

2.1 Pembuatan Starter dan Produksi Bakteri

Sebanyak satu ose isolat yang berumur 24 jam diinokulasikan dalam 10 ml MRSB dan diinkubasi pada *shaker* selama 18- 24 jam. Sebanyak 10 ml starter yang sudah dibuat diinokulasikan kedalam 90 ml MRSB, kemudian diinkubasi pada *shaker* selama 24 jam.

2.2 Preparasi Antibakteri

1. Antibakteri Asam

Sebanyak 50 ml kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4 °C selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar antibakteri asam.

2. Antibakteri Netral

Sebanyak 50 ml kultur dilakukan pengukuran pH lalu dinetralkan menggunakan NaOH 1 M hingga dicapai pH 7, kemudian kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4 °C

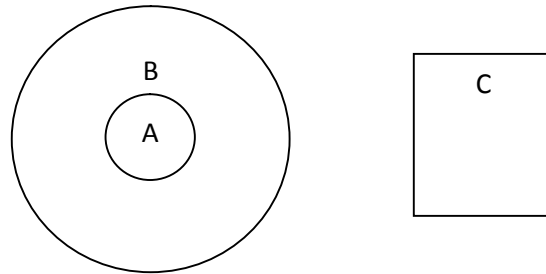
selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar antibakteri dengan penetralan.

3. Uji Kemampuan Antibakteri

Tahap uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumur agar (agar *well diffusion*). Selanjutnya satu ml bakteri uji diinokulasikan pada cawan petri steril, kemudian ditambahkan NA sebanyak 25 ml dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah padat dibuat dua lubang sumur pada setiap cawannya dengan diameter 7 mm menggunakan tip pipet 1 ml steril. Antibakteri yang telah dibuat selanjutnya dimasukkan pada sumur, masing–masing sebanyak 100 μ l, baik antibakteri asam maupun antibakteri netral. Kedua jenis antibakteri tersebut diuji pada cawan yang berbeda dan sebagai bakteri uji yaitu *Bacillus* sp. dan *Escherecia coli*, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran merupakan kemampuan daya hambat antibakteri BAL terhadap bakteri uji (Harley dan Prescott, 2002).

4. Perhitungan Luas Zona Hambat Antibakteri BAL

Luas zona hambat ditentukan dengan bantuan plastik kaku yang digunakan untuk menjiplak zona jernih yang terbentuk, selanjutnya plastik dipotong dan ditimbang. Luas zona hambat diketahui dengan mengkonversikan berat masing–masing plastik kaku berukuran 1cm² dan dikurangi dengan luas lingkaran sumur (Harley dan Prescott, 2002)



Gambar 1. Perhitungan luas zona hambat

Keterangan :

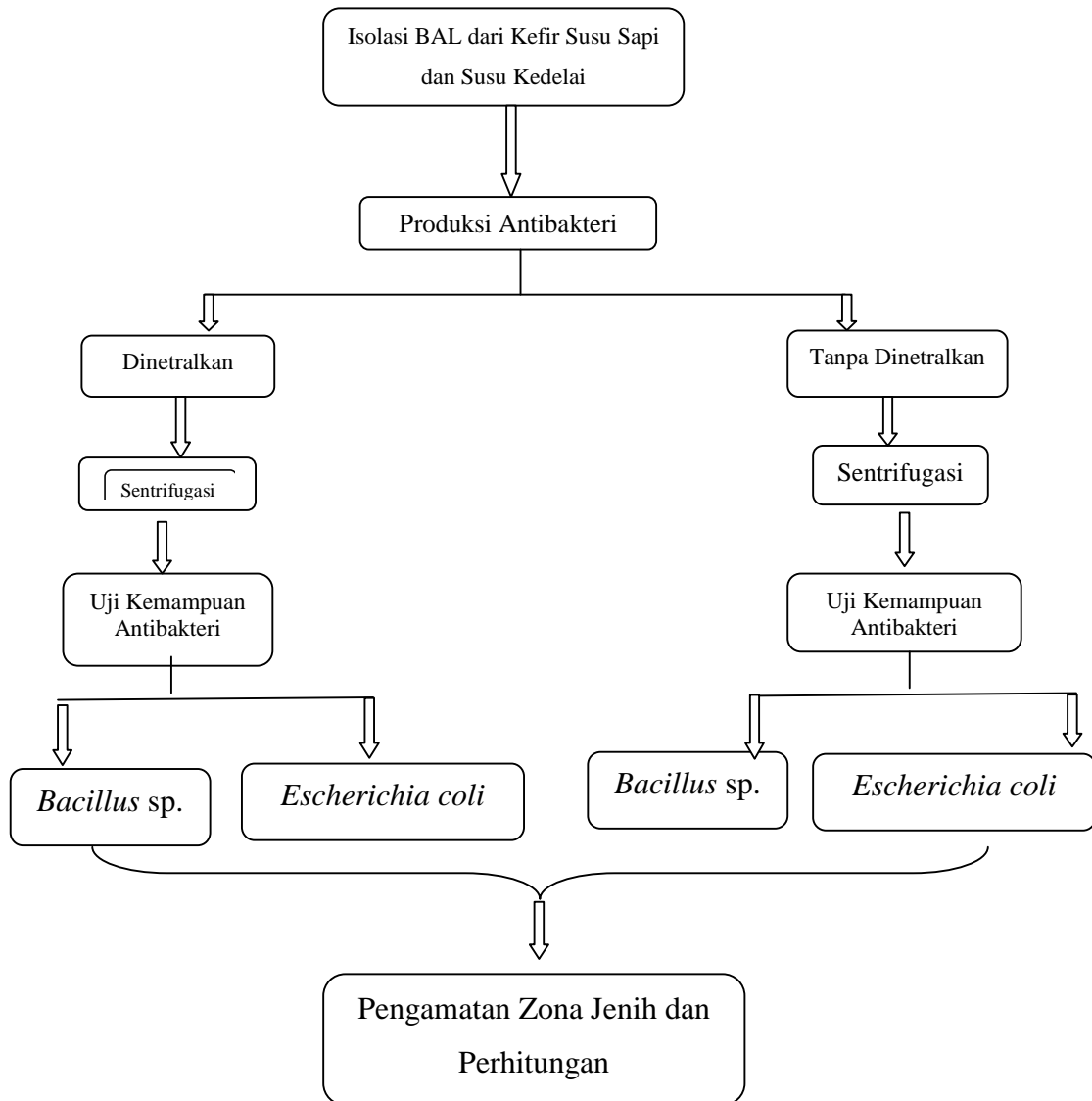
A = Luas Lingkaran lubang sumur (cm²)

B = Luas zona hambat (gram)

C = Luas plastik kaku 1cm²

$$LUAS ZONA HAMBAT = \frac{B}{C} - A$$

F. Diagram Alir



Gambar 2. Diagram Alir Isolasi dan Uji Daya Antibakteri BAL terhadap *Bacillus sp.* dan *Escherichia coli*

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Isolat BAL dari kefir susu sapi dan susu kedelai memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* baik dalam kondisi asam maupun netral. Dalam kondisi asam, isolat KE2 memiliki daya antibakteri tertinggi terhadap *Bacillus* sp. yaitu sebesar 3,39 cm² dan Isolat KE1 memiliki kemampuan antibakteri tertinggi terhadap *Escherichia coli* sebesar 3,51 cm². Dalam kondisi, netral, isolat SA3 memiliki kemampuan antibakteri tertinggi terhadap *Bacillus* sp. dengan luas zona hambat sebesar 1,86 cm² dan isolat SA2 memiliki kemampuan tertinggi terhadap *Escherichia coli* sebesar 2,49 cm².

B. Saran

Saran yang diajukan pada penelitian ini yaitu perlu dilakukan uji daya antibakteri isolat bakteri asam laktat dari kefir susu kedelai dan kefir susu sapi terhadap bakteri patogen spesies lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Albaarri, A.N. dan T.W. Murti. 2003. *Analisa pH, Keasaman, dan Kadar Laktosa Pada. Yakult, Yogurt, Kefir*. Unik Soegijapranata. Semarang.
- Alokomi, H.L., E. Skytta dan M. Saarela. 2000. Lactic Acid Permeabilizes Gram Negative Bacteria By Disrupting Outer Membrane. *Appl and Environ Microbiol.* 66 (5): 2001-2005.
- Aman dan Harjo.1973. *Perbaikan Mutu Susu Kedelai di dalam Botol*. Departemen Perindustrian Bogor. Bandung.
- BBPascapanen (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian). 2007. Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. *Warta Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Volume 29 (2)*
- Berg, H.C. .2004. *E. coli in Motion, Biological and Medical Physics Biomedical Engineering*. Sp.ringer verlag aip press. New York.
- Branen, A.L. dan Davidson.1993. *Antimicrobials in Foods 2nd ed*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Cotter, P.D. dan C. Hill. 2003. Surviving the Acid Test : Responses of Gram Positive Bacteria to Low pH. *Microbiology and Molecular Biology Review* Vol. 67 No.3 : 429-453.
- Dikeman, M. dan C. Devine. 2014. *Encyclopedia of Meat Sciences: 3 -volume set*. Academic Press. London.
- Fuller, R.1992. *History and Development of Probiotics*. In Probiotics the Scientific Basis. Champman and Hill. P. 72-73.
- Forsythe, S.J., 2000, *The Microbiology of Safe Food*, Blackwell Science, Oxford.
- Ghanbari, M. dan M. Jami. 2013. *Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: A Promising Approach to Seafood Biopreservation* diambil dari : <https://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/lactic-acid-bacteria-and-their-bacteriocins-a-promising-approach-to-seafood-biopreservation> (17 April 2018)

- Harley, J.P., L.M. Prescott., dan D.A. Klein., 2008. *Microbiology*. William C. Brown Publishers. USA.
- Hart, T. dan P. Shears. 2004. *Color Atlas of Medical Microbiology*. Mosby. United States
- Hill, M.J. 1995. *Role of Gut Bacteria In Human Toxicology and Pharmacology*. Taylor & Francis Ltd. London.
- Khikmah, N. 2015. Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial pada Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Saintek, Vol. 20 (1) : 45-52*.
- Koswara, S. 1992. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Koswara, S. 2006. *Teknologi Modifikasi Pati*. Ebook Pangan.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah . *Tesis*. Magister Gizi Masyarakat Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kusmiati dan A. Malik. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides Pbac1* pada Berbagai Media. *Makalah Kesehatan 6(1): 1 -6*
- Lindawati, S.A., Y.S. Haniyah., N.S Miwada., N.W.T. Inggriati., M. Hartawan., dan, I.G.D. Suarta. 2014. Aktivitas Antimikroba Yogurt Berbasis Air Kelapa Menghambat Bakteri Patogen Secara in Vitro. *Majalah Ilmiah Peternakan Volume 17 Nomor 2 tahun 2014*.
- Lumbangaol, M. 2015. Uji Kemampuan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Tempoyak Sebagai Pengawet Hayati pada Daging Sapi dan Ayam Potong. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Malaka, R. dan A. Laga 2005. Isolasi dan Identifikasi *Lactobacillus Bulgaricus* Strain Ropy dari Yoghurt Komersial. *Sains & Teknologi, April 2005, Vol. 5 No. 1: 50 – 58*.
- Manning , D.S. 2010. *Escherichia coli Infection*. Chelsea House Pub. New York.
- Michael, B., B.R. Sidartha, dan L.M.E. Purwijantiningsih. 2014. Potensi Kefir Sebagai Anti Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Penelitian Fakultas Teknobiologi*. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. P1-13

- Nurdiana, M. 2002. Aktivitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri Yoghurt dari Tiga Kultur Campuran Bakteri. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurohman. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Bekasam Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus* sp. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Onibala, H. 2013. Identifikasi *Bacillus* sp. pada Beberapa Tahapan Pengolahan Frozen Tasteless Smoked Tuna. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. Vol. 9 No. 2 : 76-79
- Pawiroharsono, S. 2007. Potensi Pengembangan Industri dan Bioekonomi Berbasis Makanan Fermentasi Tradisional. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(2) : 85-91.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press, Jakarta.
- Poeloengan, M. 2008. Pengujian Yoghurt Probiotik pada Pertumbuhan Bakteri. *Prosiding Semiloka Nasional Pros-pekindustri Sapi Perah Menuju perdagangan bebas 2020*, Bogor: 303-307.
- Rachmawati, I., Suranto, dan R. Setyaningsih. 2005. Uji Antibakteri Bakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Bioteknologi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Vol 2 (2): 43-48
- Ray, B. 2003. *Fundamental Food Microbiology 3rd Ed*. CRC Press. London.
- Reddy, G., M.D. Altaf., B.J. Naveena., M. Venkateshwar., and E.V. Kumar. 2008. Amylolytic Bacterial Lactic Acid Fermentation, A Review. *Biotechnology Advances* 26: 22-34
- Suhartanti, D. 2014. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kambing Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ekosains Vol. VI No. 1 : 1-7*
- Sujaya, I.N., S. Amachi, K. Saito, A. Yokota, K. Asano dan F. Tomita. 2002. Specific Enumeration of Lactic Acid Bacteria in Ragi Tape by Colony Hybridization with Specific Oligonucleotide Probes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. No. 18: 263-270.
- Sundararaj. 2004. *Microbiology*. Government of Tamil Nadu. Chennai.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi, dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta

- Usmiati, S. 2007. Kefir, Susu fermentasi dengan rasa menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor*. 29(2) :12-14.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Cetakan I. Lacticia Press. Yogyakarta.
- Wijaningsih, W. 2008. Aktivitas Antibakteri In Vitro Dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter Dan Lama Fermentasi. *Tesis*. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro. Semarang.