

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
DARI KULIT PISANG KEPOK (*Musa balbisiana*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

OLEH:

AULIA ULINNUHA

NIM. 14620007



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
DARI KULIT PISANG KEPOK (*Musa balbisiana*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik
Ibrahim Malang untuk Memenuhi Salah satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

OLEH:

AULIA ULINNUHA

NIM. 14620007

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
DARI KULIT PISANG KEPOK (*Musa balbisiana*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**OLEH:
AULIA ULINNUHA
NIM. 14620007**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 10 Oktober 2018

Pembimbing I,

Ir. Liliek Harianie A.R, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Pembimbing II,

Umaiatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

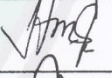
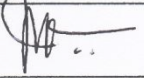
HALAMAN PENGESAHAN

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
DARI KULIT PISANG KEPOK (*Musa balbisiana*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**OLEH:
AULIA ULINNUHA
NIM. 14620007**

Telah dipertahankan di Depan Penguji Skripsi
dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 10 Oktober 2018

Penguji Utama	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509199903 2 002	
Ketua Penguji	Nur Kusmiyati, M.Si NIP. 19890816 20160801 2 061	
Sekretaris Penguji	Ir. Liliek Harianie A.R., M.P NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji	Umaiatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.Si., D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Ulinnuha
 NIM : 14620007
 Jurusan : Biologi
 Fakultas : Sains dan Teknologi
 Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)
 Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) Sebagai
 Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar rujukan. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Oktober 2018

Yang membuat pernyataan,



AULIA ULINNUHA

NIM. 14620007

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ۖ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ۚ

Artinya: “karena Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”. (Q.S. Al-Insyirah: 5-6)

”Sukses bukanlah final, kegagalan tak terlalu fatal.

Keberanian untuk melanjutkannya lah yang lebih penting”

Winston S. Churchill

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, rasa syukur saya haturkan kehadiran Allah SWT atas segala nikmat dan karunia yang telah diberikan, serta Sholawat dan Salam atas baginda Nabi besar Muhammad SAW yang telah membimbing umatnya dari zaman kegelapan (jahiliyah) sampai menjadi zaman terang benderang melalui penyebaran cahaya iman, islam dan ilmu pengetahuan yang haqiqi.

Tugas Akhir ini kupersembahkan untuk kedua orang tuaku dan adek tercinta, Ayahanda Syafi'i, Ibunda Khosiatun dan Adekku Amirotul Ilmiah yang selalu memberikan dukungan finansial, motivasi, semangat dan nasihat. Perjuanganku tak lepas dari setiap do'a - do'a yang tiada henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya untuk kerberhasilan dan selalu cinta kepadaku.....

Terima kasih sebanyak-banyaknya untuk sahabat-sahabat saya tercinta (Mb Daris, Fida, Ulum, Eva, Nurel, Mb Afny, Nada, teman-teman Biologi 2014 dan segenap keluarga Mikrobiologi pada umumnya) yang senantiasa menjadi penyemangat, motivator tempat berbagi suka dan duka kepada penulis.

Teruntuk keluarga LTPLM (Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang) Ibu Nyai Utin Nur Hidayati terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di pesantren, tak lupa pula kepada teman-teman Tiara, Riska, Bintan, Sirril, Fikriyah, Mb Lia, Mb riris dan segenap keluarga besar Pesantren Luhur Malang terma kasih atas dukungan morilnya dan selalu menghibur di kala kepenatan dalam mengerjakan tugas akhir.

Serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini dan semoga Allah SWT melimpahkan Rahmat dan Rahim-Nya kepada kalian semua, Amiin Yaa Robbal 'Alamiin.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, Wr. Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”.

Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Penulis juga haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan *Jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si., D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Liliek Harianie, A.R., M.P, selaku dosen pembimbing utama yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan waktu untuk membimbing penulis penyelesaian skripsi.
5. Umayyatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat dan motivasi pandangan sains dari prespektif Islam dalam penyelesaian skripsi.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si, dan Nur Kusmiyati, M.Si, selaku dosen peguji yang telah memberikan saran terbaiknya.

7. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd, selaku dosen wali yang telah banyak senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, saran dan motivasi selama perkuliahan.
8. Kedua orang tua penulis Ayahanda Syafi'i dan Ibunda Khosi'atun, serta Adikku tercinta Amirotul Ilmiah yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
9. Al-Maghfurlah Abah Prof. Dr. KH. Achmad Mudlor, S.H. dan Ibu Nyai Utin Nur Hidayati selaku pengasuh Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang (LTPLM) yang telah memberikan ilmu agama yang bermanfaat dan menjadi orang tua penulis selama menempu pendidikan S1 di Malang.
10. Laboran dan staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Seluruh teman-teman Biologi 2014 dan segenap keluarga Mikrobiologi Lab Squad yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan motivasi kepada penulis sehingga penulisan tugas akhir ini dapat terselesaikan.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca. *Amin Ya Robbal 'Alamiin.*

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, 10 Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
ملخص.....	xviii

BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Hipotesis Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	9

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Pisang Kepok (<i>Musa parasidiaca formatypica</i>)	10
2.2 Kandungan Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	15
2.3 Potensi Buah Pisang Kepok Sebagai Senyawa Antimikroba	18
2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL).....	20
2.4.1 Pewarnaan Gram	23
2.4.2 Pewarnaan Endospora	25
2.4.3 Katalase	26
2.4.4 Motilitas	26
2.4.5 Tipe Fermentasi	27

2.4.5.1 Homofermentatif dan Heterofermentatif	28
2.4.6 Pertumbuhan Suhu yang Berbeda	29
2.4.7 Ketahanan Garam (NaCl)	30
2.5 Antimikroba	31
2.5.1 Pengertian Antimikroba	31
2.5.2 Uji Aktivitas Antimikroba	32
2.5.3 Mekanisme Antibakteri	33
2.6 Bakteri Uji	35
2.6.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	35
2.6.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	37
2.7 Media Selektif MRSA (<i>De Mann Rogosa Sharpe Agar</i>) dan MRSB (<i>De Mann Rogosa Sharpe Broth</i>)	39
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	40
3.1 Rancangan Penelitian	40
3.2 Waktu dan Tempat.....	40
3.3 Variabel Penelitian	40
3.3.1 Variabel Bebas	40
3.3.2 Variabel Terikat	41
3.3.3 Variabel Kontrol	41
3.4 Alat dan Bahan	41
3.4.1 Alat.....	41
3.4.2 Bahan	42
3.5 Prosedur Penelitian.....	42
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	42
3.5.2 Pembuatan Media	42
3.5.3 Isolasi BAL dari Kulit Pisang Kepok	43
3.5.4 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)	44
3.5.4.1 Pengamatan Makroskopis	44
3.5.4.2 Pengamatan Mikroskopis	45
3.5.4.3 Uji Biokimia dan Karakterisasi Fisiologi	46
3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	48
3.5.5.1 Pembuatan Bakteri Uji.....	48
3.5.5.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	49
3.5.5.3 Uji Antibakteri terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	49
3.6 Analisis Data	50
3.7 Alur Penelitian	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	52
4.1 Isolasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	52
4.2 Karakterisasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>).....	53
4.2.1 Karakterisasi Makroskopis	53
4.2.2 Karakterisasi Mikroskopis	56
4.2.2.1 Pewarnaan Gram	57
4.2.2.2 Pewarnaan Endospora	59

4.2.3 Uji Biokimia dan Karakterisasi Fisiologi	61
4.2.3.1 Uji Katalase	61
4.2.3.2 Uji Motilitas	63
4.2.3.3 Uji Tipe Fermentasi	63
4.2.3.4 Uji Ketahanan Suhu	64
4.2.3.5 Uji Ketahanan Garam (NaCl)	66
4.2.4 Isolat Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	68
4.3 Aktivitas Antibakteri BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa</i> <i>balbisiana</i>) terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	70
BAB V PENUTUP	79
5.1 Kesimpulan.....	79
5.2 Saran	80
DAFTAR PUSTAKA	81
LAMPIRAN	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pisang Kepok	14
Gambar 2.2 Mekanisme Bahan Antimikroba terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif	35
Gambar 2.3 Morfologi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	36
Gambar 2.4 Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Gambar 3.1 Diagram Penelitian	51
Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	57
Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Endospora dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	60
Gambar 4.3 Hasil Uji Katalase Isolat dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	62
Gambar 4.4 Hasil Uji Motilitas Isolat dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	63
Gambar 4.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	64
Gambar 4.6 Hasil Uji Ketahanan Suhu Isolat dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	65
Gambar 4.7 Hasil Uji Ketahanan Garam (NaCl) Isolat dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	67
Gambar 4.8 Zona Hambat pada Uji Antibakteri menggunakan Difusi Sumuran	71

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi/Penggolongan Ukuran Pisang Kepok Kuning Segar	12
Tabel 2.2 Persyaratan Mutu Pisang Kepok Kuning Segar	12
Tabel 2.3 Kandungan Kulit Pisang Kepok (<i>Musa parasidiaca</i> L.)	15
Tabel 2.4 Kategori Daya Hambat Antimikroba	31
Tabel 2.5 Beberapa Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	31
Tabel 4.1 Hasil Bentuk Makroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	54
Tabel 4.2 Hasil Mikroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>).....	56
Tabel 4.3 Hasil Rerata (<i>mean</i>) dan Simpang Baku (SD) Zona Hambat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>) terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	72
Tabel 4.4 Kategori Rerata Diameter Penghambatan Zat Antibakteri	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan Karakterisasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	89
Lampiran 2. Komposisi Media	90
Lampiran 3. Gambar Hasil Isolasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	91
Lampiran 4. Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	92
Lampiran 5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	93
Lampiran 6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	94
Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	95
Lampiran 8. Gambar Hasil Uji Motilitas Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	96
Lampiran 9. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 15°C Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	97
Lampiran 10. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 37°C Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	98
Lampiran 11. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 45°C Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	99
Lampiran 12. Gambar Hasil Uji Toleransi 4% Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	100
Lampiran 13. Gambar Hasil Uji Toleransi 6,5% Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	101
Lampiran 14. Gambar Hasil Uji Antibakteri dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i>)	102
Lampiran 15. Gambar Regenerasi Mikroba Uji	102
Lampiran 16. Diagram Alur <i>Bergey's Manual of Determinative Bacteriology</i>	103
Lampiran 16. Analisis Data	104

ABSTRAK

Ulinnuha, Aulia. 2018. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***. SKRIPSI. Jurusan Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Ir. Liliek Harianie, A.R. M.P; Pembimbing Agama: Umaiyatus Syarifah, M.A

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*), Antibakteri

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari buah-buahan dan sayuran, diantaranya kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*). Kulit pisang dapat digunakan sebagai antidiare, ekstrak kulit pisang kepok memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Hal ini dikarenakan kulit pisang mempunyai kandungan seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan kuinon. Pisang kepok memiliki kandungan karbohidrat lebih tinggi dibandingkan dengan pisang-pisang yang lain sebesar 35.24%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang telah difermentasi sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif, untuk mengetahui adanya bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) terfermentasi sebagai antibakteri. Proses fermentasi dilakukan secara alami selama 48 jam. Sampel kemudian diencerkan bertingkat menggunakan aquades dan dilakukan dengan metode tuang. Tiap koloni yang berbeda dimurnikan dengan metode gores. Didapatkan 5 isolat, yaitu KP1, KP2, KP3, KP4 dan KP5. Kemudian dilakukan karakterisasi bakteri asam laktat dengan pengamatan makroskopik, mikroskopik, dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi. Isolat bakteri asam laktat kemudian dilakukan uji antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan menggunakan metode difusi sumuran.

Hasil penelitian menunjukkan adanya bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) terfermentasi dari genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*. Pengujian zona hambat uji antibakteri KP1 terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan nilai zona hambat sebesar $19,3 \pm 1,78$ mm dan $9,9 \pm 1,91$ mm. Selanjutnya uji antibakteri KP3 terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan nilai zona hambat sebesar $26,0 \pm 3,42$ mm dan $13,8 \pm 5,28$ mm. Sedangkan uji antibakteri KP5 terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan nilai zona hambat sebesar $15,4 \pm 2,88$ mm dan $17,8 \pm 1,75$ mm. Berdasarkan hasil uji diatas, dapat diketahui bahwa isolat BAL dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) berpotensi sebagai antimikroba terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Dari ketiga isolat yang diuji isolat KP3 (*Lactobacillus*) lebih efektif dengan nilai zona hambat $26,0 \pm 3,42$ mm.

ABSTRACT

Ulinnuha, Aulia. 2018. **Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) from Kepok Banana Peel (*Musa balbisiana*) as Antibacterial *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus***. ESSAY. Department of Biology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Biology Advisor: Ir. Liliek Harianie, A.R. M.P; Religious Advisor: Umaiatus Syarifah, M.A

Keywords: Lactic Acid Bakteria, *Kepok Banana Peel (*Musa balbisiana*)*, Antibacterial

Lactic Acid Bacteria (LAB) are bacteria which are helpful for health. They improve the balance of intestinal microflora. Lactic acid bacteria can be isolated from fruits and vegetables, including *Kepok* banana peel (*Musa balbisiana*). Banana peel can be used as an anti diarrhea, *kepok_banana* peel extract has secondary metabolites which have the potential as antioxidants. Because banana peels have contents such as flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and quinones. *Kepok* banana has a higher carbohydrate than other bananas at 35.24%. This study aims to find out the types of lactic acid bacteria in *kepok* banana peel which has been fermented as antibacterial *E. coli* and *S. aureus*.

This study applies qualitative and quantitative descriptive approach, to find out the presence of lactic acid bacteria from fermented *kepok* banana peel (*Musa balbisiana*) as antibacterial. The fermentation process is carried out naturally during 48 hours. The sample was diluted with multilevel using aquades using pouring method. Every different colony is purified by the scratch method. Five isolates were obtained, which are KP1, KP2, KP3, KP4 and KP5. After that, lactic acid bacteria are characterization by macroscopic and microscopic observations and biochemical tests also physiological characterization. Lactic acid bacteria isolate is tested for antibacterial against *E. coli* and *S. aureus* using the well diffusion method.

The results shows the lactic acid bacteria are found in *kepok* banana peel (*Musa balbisiana*) fermented from genus *Lactobacillus* and *Leuconostoc*. Zone of inhibition test for antibacterial of KP1 towards *E. coli* and *S. aureus* shows inhibitory zone $19,3 \pm 1,78$ mm and $9,9 \pm 1,91$ mm. Furthermore, zone of inhibitory test for antibacterial test of KP3 towards *E. coli* and *S. aureus* shows inhibitory zone $26,0 \pm 3,42$ mm and $13,8 \pm 5,28$ mm. While KP5 towards *E. coli* and *S. aureus* show inhibitory zone $15,4 \pm 2,88$ mm and $17,8 \pm 1,75$ mm. Based on the results of the test, it can be seen that the lactic acid bacteria isolates from *kepok* banana peel is potentially antimicrobials towards *E. coli* and *S. aureus* which is characterized by the formation of inhibitory zone. Three isolates which have KP3 isolate (*Lactobacillus*) is more effective with inhibition zone $26,0 \pm 3,42$ mm.

مختصر البحث

اولى النّهي، اوليا. ٢٠١٨. اخذ بكتيريا حمض اللاكتيك من قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*) وتخصيص وصف كمضاد بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. بحث عملي. قسم البيولوجيا، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية (UIN) مولانا مالك إبراهيم مالانغ. المشرفة في علم البيولوجيا : غير، ليليك هارياني الماجستير و المشرف في علم الدين: الدكتور أوميّة الشريفة الماجستير.

الكلمات الرئيسية: بكتيريا حمض اللاكتيك، قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*)، مضاد البكتيريا

بكتيريا حمض اللاكتيك (BAL) له منفع كثيرة في صحة الجسم بتحسين توازن بكتيريا امعوية. ويؤخذ بكتيريا حمض اللاكتيك من الفواكه والخضروات، منها قشر الموز كيفوك (*Musa balbisiana*). ويمكن استخدام قشر الموز كمضاد الاسهال، مستخلصا قشر الموز "كيفوك" يكون الايض الثانوية التي المضادة للاكسدة. لأن في قشر الموز لديك مثل المحتوى الفلافونويد، شبه قلو، حمض الطنطاليك، سابونين، و كينون. الموز "كيفوك" هو الكربوهيدرات اعلى مقارنة لآخر بقدر من الموز 35.24%. يهدف هذه الحث لمعرفة نوع بكتيريا حمض اللاكتيك في قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*) المخترعة كمضاد بكتيريا *E. coli* و *S. aureus*.

اجري البحث الوصفية نوعياً كانت وكما، لمعرفة وجود المخمرة بكتيريا حمض "اللاكتيك" من قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*) كمضاد. واجري الاختبار بطريق طبيعية خلال 48 ساعة. وبعد ذلك خففة العينة بتقدير المستويات باستعمال اقواديس واجري الطلاء بطريقة الصب. كل المستعمرة المختلفة تخلص بتقنية الصفر. والحاصل كان خمسة جنس بكتيريا الماخوذة، يعني KP1، KP2، KP3، KP4 و KP5. ثم يوقد تخصيص للوصف من بكتيريا حمض اللاكتيك بملاحظة العيانية، المجهرية الاختبارات البيوكيميائية، التوصيف الفسيولوجي. بكتيريا حمض الكتيك الماخوذة يختبر باختبار مضاد بكتيريا الى *E. coli* و *S. aureus* بطريقة نشر البئر.

ويدل الحاصل على وجود بكتيريا حمض اللاكتيك من قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*) المخمرة من جنس *Lactobacillus* و *Leuconostoc*. اختبار منطق الحواجز من اختبار مضاد بكتيريا KP1 الى *E. coli* و *S. aureus* يدل نتيجة منطقة الحواجز بقدر mm 1,78±19,3 و mm 1,91±9,9. اختبار منطق الحواجز من اختبار مضاد بكتيريا KP3 الى *E. coli* و *S. aureus* يدل نتيجة منطقة الحواجز بقدر mm 3,42±26,0 و mm 5,28±13,8. اختبار منطق الحواجز من اختبار مضاد بكتيريا KP5 الى *E. coli* و *S. aureus* يدل نتيجة منطقة الحواجز بقدر mm 2,88±15,4 و mm 1,75±17,8. اسنادا الى حصول الاختبار المذكورة، يعرف ان بكتيريا حمض اللاكتيك الماخوذة من قشر الموز "كيفوك" (*Musa balbisiana*) لها إمكانية كمضاد بكتيريا الى *E. coli* و *S. aureus* بعلامة تسكيل منطقة الحواجز. من الماخوذة الثلاث التي اختبارها ماخوذة KP3 اكثر فعالية مع قيم منطق الحواجز بقدر mm 3,42±26,0.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman pisang merupakan salah satu tanaman tropis di Indonesia, yang memiliki banyak khasiat sehingga dapat digunakan sebagai obat alami. Menurut klasifikasi taksonomi dalam ilmu tumbuhan pisang kepok termasuk ke dalam famili *Musaceae* (Weremfo, 2011). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2014), produksi buah pisang semakin meningkat tiap tahun. Produksi buah pisang mulai tahun 2011 hingga 2014 memiliki kecenderungan meningkat sebesar 6.123.695, 6.189.052 dan 6.862.588 ton (sementara).

Limbah kulit pisang saat ini kurang dimanfaatkan secara optimal dan hanya dibuang sebagai limbah organik yang tidak berguna, padahal kulit pisang mengandung nilai gizi yang tidak kalah dengan dagingnya (Ermawati, 2016). Kulit pisang merupakan limbah petanian yang cukup banyak ditemukan dimana-mana, sehingga dalam hal ini kulit pisang dapat dimanfaatkan menjadi suatu bahan/produk makanan oleh industri. Penelitian tentang kulit pisang menunjukkan bahwa kulit pisang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Okoli, *et al.*, 2009). Kulit pisang memiliki banyak khasiat diantaranya dapat digunakan sebagai antidiare (Wijaya, 2010), ekstrak kulit pisang kepok memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan (Supriati, dkk., 2015), antikanker, maupun antidemartosis (Sri Atun, *et al.*, 2007). Hal ini, dikarenakan kulit pisang mempunyai kandungan seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan kuinon (Saraswati, 2005).

Hasil penelitian dari Eveline (2011), menyatakan bahwa pemanfaatan ekstrak kulit pisang kepok sebagai antibakteri membuktikan tentang adanya daya hambat bakteri dari senyawa alkaloid, phenolik dan flavonoid dengan zona hambat 5,2–7,5 mm. Senyawa saponin, tanin, flavonoid, kuinon, fenol dan lektin ekstrak pelepah pisang ambon dapat menghambat aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (Alfiah, 2015). Penelitian yang dilakukan Someya *et al.* (2002), membuktikan bahwa pada kulit pisang mengandung aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dibandingkan dengan dagingnya. Aktivitas antioksidan pada kulit pisang mencapai 94,25% pada konsentrasi 125 mg/mL sedangkan pada buahnya hanya sekitar 70% pada konsentrasi 50 mg/mL (Fatemeh *et al.*, 2012). Kulit pisang kepok juga memiliki unsur gizi cukup lengkap diantaranya zat besi, protein, vitamin C, kalsium, vitamin B, lemak, fosfor dan karbohidrat (Munadjim, 1998). Menurut Hapsari (2016), pisang kepok memiliki kandungan karbohidrat lebih tinggi dibandingkan dengan pisang-pisang yang lain sebesar 35.24%. Kandungan glukosa yang masih cukup tinggi dalam kulit pisang ini merupakan salah satu komponen utama dalam fermentasi asam laktat.

Penciptaan makhluk Allah SWT tidak ada yang sia-sia walaupun sekecil apapun, salah satunya dapat digunakan sebagai antibakteri. Islam mengajarkan bahwa alam beserta isinya seperti hewan dan tanaman diciptakan untuk manusia. Manusia diberikan kesempatan yang luas untuk mengambil manfaat dari alam semesta, dengan mengetahui manfaat suatu tanaman manusia dapat meningkatkan keimanan kepada Allah SWT.

Allah SWT memberikan kepada manusia berupa kekayaan alam di Indonesia yang merupakan suatu anugrah terbesar wajib untuk diketahui. Salah satu pemanfaatan makhluk ciptaan Allah SWT yang baik untuk kesehatan adalah dengan menggunakan mikroba yang memiliki kemampuan sebagai probiotik. Seperti halnya, BAL yang dapat menurunkan produksi amonium dalam saluran pencernaan dan mengurangi produksi racun (Brizuela, *et al.*, 2001). Salah satunya, tumbuhan pisang yang dapat digunakan sebagai probiotik. Buah tersebut termasuk salah satu buah yang ada dalam al-Qur'an sebagai buah surga, yaitu dalam surah al-Waqi'ah (56): 27-29:

وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ ﴿٢٧﴾ فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ ﴿٢٨﴾ وَطَلْحٍ مَّنْضُودٍ ﴿٢٩﴾

“Dan golongan kanan, alangkah bahagianya golongan kanan itu (27) Berada di antara pohon bidara yang tak berduri (28) dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya) (29)” (Q.S. Al-Waqi'ah 27-29).

Ayat di atas Allah SWT berfirman *وطلح منضود* yang memiliki makna *“Dan pohon pisang yang bersusun (buahnya)”*. Menurut kamus Lisanul Arab, kata *الطلح* secara bahasa berarti *الطلع*, *“disebut demikian, karena pohon tersebut mempunyai bau yang sangat harum”* (Mandzur, 1993). Hal ini, dikarenakan lafad *طلح* (*Tahl*) ditafsirkan sebagai pohon pisang atau kurma. Namun, banyak juga yang menggambarkan sebagai pohon yang memiliki batang sangat kuat, dahannya panjang dan tinggi, dan memiliki aroma yang harum (Shihab, 2002). Mengenai firman Allah SWT *وطلح منضود* *“Dan pohon pisang yang bersusun-susun (buahnya)”*, Ibnu Jarir mempunyai pendapat yaitu: pohon ini adalah pohon pisang dan buah yang bersusun-susun, yaitu buah pisang (Katsir, 2007).

Bakteri Asam Laktat (BAL) didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri Gram positif, tidak memiliki spora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat, sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. BAL merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi produktivitas (Yousef dan Clastrom, 2003). Menurut Susilowati (2016), menyatakan bahwa hasil penelitiannya tentang BAL dari fermentasi air cucian beras dengan melakukan uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, katalase, motilitas, tipe fermentasi, ketahanan suhu yang berbeda dan uji konsentrasi NaCl diperoleh 2 genus isolat BAL yaitu *Lactobacillus* sp. Dan *Streptococcus* sp.

BAL memiliki kemampuan mengubah gula menjadi asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain, karena molekul asam dapat masuk ke dalam membran sel dan menurunkan pH sitoplasma (Pleczar dan Chan, 2008). Hasil penelitian Yolanda, dkk. (2017), menyatakan bahwa BAL pada fermentasi kimchi menghasilkan asam laktat yang dapat mengawetkan atau memiliki daya antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAL banyak ditemukan pada berbagai bahan hasil pertanian, selain pada produk fermentasi susu. Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-buahan dan sayuran seperti asinan buah dan sayur (Kusumawati, 2003), minuman dan buah (Plessis, 2004), durian, nanas, cacao, pisang dan lain sebagainya adalah potensial sebagai sumber BAL (Nurhayati, 2011). Hasil penelitian Umam (2012),

dalam penelitiannya tentang karakter minuman sinbiotik dari pisang kepok (*Musa parasidiaca* formtypical) dengan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum*, dengan hasil yaitu minuman sinbiotik buah pisang kepok dengan starter *Lactobacillus acidophilus* kadar asam laktat yang lebih besar pada semua perlakuan dari *Bifidobacterium longum* dan hasil organoleptik panelis menyukai fermentasi pisang kepok dengan penambahan skim. Beberapa BAL berhasil diisolasi dari hasil fermentasi diantaranya hasil penelitian Nurhayati (2011), pada fermentasi pisang var. Agung semeru ditemukan BAL dengan genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Weissella*. Hasil penelitian Ningsih, dkk. (2013), menyatakan bahwa akar, bonggol, pelepah daun jantung pisang dan buah dari tanaman pisang kepok kuning memiliki aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang ditimpa dengan morbiditas dan mortalitas, disebabkan oleh tingginya kejadian penyakit diare. Di dunia angka penyakit diare pada anak mencapai 1 miliar setiap tahunnya, sekitar 4 juta jiwa korban meninggal dengan kasus penyakit ini. Menurut Departemen Kemenkes (2011), di negara Indonesia angka kematian balita akibat diare sekitar 2,8 juta tiap tahun. Sebaran frekuensi Kejadian Luar Biasa (KLB) terbesar di Indonesia pada urutan kedua ditempati oleh provinsi Jawa Timur setelah Sulawesi Tengah. Kasus penyakit diare sering disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Menurut Hastari (2012), *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat hidup didalam usus manusia. Bakteri ini termasuk

golongan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, berkelompok tidak beraturan seperti halnya buah anggur dan mempunyai sifat fakultatif anaerob. Bakteri *S. aureus* dapat berpotensi sebagai toksin, ketika dalam jumlah 10⁵ CFU/mL (Pelczar dan Chan, 2008). Bakteri ini hidup secara saprofit didalam saluran usus, kelenjar keringat, permukaan dan saluran membran tubuh manusia.

Menurut Pelczar dan Chan (2008), *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat hidup didalam usus manusia. Bakteri ini termasuk golongan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. Bakteri *E. coli* dapat berpotensi menyebabkan toksik dalam jumlah 10⁶ CFU/mL. Pada proses pembusukan sisa-sisa makanan bakteri tersebut juga berperan, sehingga dalam keadaan normal dapat dikeluarkan dalam bentuk feses.

Hasil penelitian sebelumnya, asam laktat merupakan produk metabolisme BAL yang dapat membunuh bakteri patogen diantaranya bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Rachmawati, dkk., 2005). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa, beberapa strain *Lactobacillus* dapat melakukan aktivitas penghambatan pada *E. coli*. Hidrogen peroksida yang diproduksi oleh genus *Lactobacillus* dapat menghambat spesies *Pseudomonas* (Carl, 1971). Antibakteri dari cairan supernatan yang dinetralkan dari strain *L. casei* juga dapat menghambat bakteri patogen diantaranya *S. aureus*, *B. Subtilis*, *E. coli* dan *Salmonella typhimurium*.

Permasalahan penyakit infeksi yang dapat diatasi dengan antimikroba. Antimikroba merupakan bahan penghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tanaman. Usaha dalam meningkatkan daya guna sumber alam Indonesia yang sangat melimpah

dapat dilakukan dengan pemanfaatan mikroorganisme yang ada pada tumbuhan sebagai antimikroba alami. Hal ini sangat baik digunakan sebagai probiotik, yang dapat diisolasi dari alam dan kemudian diproduksi dalam skala besar secara efektif. Oleh karena itu, ini dapat menjadi salah satu alternatif terbaik yang dianggap layak, berkhasiat tinggi dan relatif murah.

Berdasarkan uraian diatas, yang mendasari peneliti mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yaitu digunakan sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sehingga, perlu diteliti lebih lanjut pengkarakterisasi morfologi yang dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi, sedangkan untuk uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi sumuran. Penelitian ini, diharapkan kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang belum dimanfaatkan dan masih sebagai limbah yang tidak berguna dapat dimanfaatkan oleh masyarakat secara optimal untuk meningkatkan nilai gunanya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apa jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*)?
2. Apakah hasil isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui jenis isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*).
2. Untuk mengetahui potensi hasil isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Bakteri Asam Laktat (BAL) terdapat dalam kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*).
2. Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari hasil isolasi kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) mempunyai kemampuan dalam menghambat *E. coli* dan *S. aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang didalamnya terdapat Bakteri Asam Laktat (BAL).
2. Memberikan solusi alternatif kepada masyarakat mengenai pemanfaatan kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) dalam rangka penyediaan senyawa

antimikroba yang alami untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

1.6 Batasan Masalah

Batasan Masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) diambil dari Ds. Kesamben Wetan Kec. Driyorejo Kab. Gresik.
2. Bagian tanaman pisang yang digunakan adalah kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang sudah matang (berwarna kuning).
3. Bakteri yang diamati adalah BAL di dalam kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*).
4. Isolat mikroba patogen sebagai bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *S. aureus* (Gram positif) dan *E. coli* (Gram negatif) yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Metode uji aktivitas antibakteri dengan difusi sumuran dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran menggunakan jangka sorong.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Pisang Kepok (*Musa parasidiaca formatypica*)

Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan terdapat di bumi ini dengan memiliki karakteristik masing-masing yang beranekaragam jenisnya. Termasuk jika dilihat dari segi morfologi yang spesifik sehingga dapat membedakan antara satu tumbuhan dengan tumbuhan yang lainnya. Berdasarkan pemaparan di atas dengan firman Allah SWT dalam surah al-An'am (6): 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۚ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikanlah pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An'am 6: 99).

Allah SWT berfirman dengan ayat di atas, yang mana terdapat lafadz نبات dalam ayat di atas yang menunjukkan arti *jama'* (banyak) yaitu bermacam-macam tumbuhan diantaranya yang memiliki ciri khas, warna, rasa dan memiliki berbagai macam kegunaan yang berbeda-beda. Selain itu, lafadz انظروا yang menunjukkan kata perintah dan bermakna “perhatikanlah”. Berdasarkan ayat di atas, Allah

SWT memerintahkan manusia untuk memperhatikan berbagai jenis tumbuhan yang ada di bumi karena pada tumbuhan tersebut terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Dalam ayat ini, Allah SWT menegaskan pada lafadz لَا يَاتِ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ, yang menunjukkan bahwa terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT tersebut hanya dapat diketahui, diperhatikan dan diamati oleh orang-orang yang beriman, selalu berfikir, memahami tanda-tanda kebesaran Allah SWT (Al-Jazairi, 2008).

Tanda-tanda kekuasaan Allah SWT selalu ada untuk orang-orang yang beriman kepada-Nya. Air hujan diturunkan Allah SWT dari langit untuk ditumbuhkannya segala macam tumbuh-tumbuhan yang bagi makhluknya akal untuk berfikir. Maksud dari firman Allah SWT “*perhatikannlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya*”, termasuk buah pisang, buah-buahan ketika masih mudah berwarna hijau dan ketika sudah masak akan berwarna kuning. Klasifikasi tanaman pisang kepok pada taksonomi tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut Munadjim (1988):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberales

Famili : Musaceae

Genus : *Musa*

Spesies : *Musa parasidiaca formatypica*

Nama lokal : Pisang kepok

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 01-4481-1998) berikut klasifikasi/penggolongan ukuran pisang kepok kuning segar dan penggolongan mutu pisang kepok kuning segar. Klasifikasi penggolongan ukuran pisang kepok kuning segar dapat dilihat pada tabel 2.1 dan persyaratan mutu pisang kepok kuning segar dapat dilihat pada tabel 2.2:

Tabel 2.1 Klasifikasi/penggolongan ukuran pisang kepok kuning segar

Spesifikasi	Satuan	Persyaratan		
		Kelas A	Kelas B	Kelas C
Berat Persisir	Kg	>3	2,5-3	<2,5
Berat Buah	gram	70-240	130-200	90-160
Panjang	cm	13-16	13-16	13-16
Lingkaran Kulit	cm	11-15	10-14	8-12
Warna		Kuning Merata	Kuning Merata	Kuning Merata
Permukaan		Halus tidak Bernoda	Halus tidak Bernoda	Halus tidak Bernoda

Sumber: SNI 01-4481-1998

Tabel 2.2 Persyaratan mutu pisang kepok kuning segar

Spesifikasi	Satuan	Persyaratan	
		Mutu I	Mutu II
Keseragaman Kultivar		Seragam	Seragam
Tingkat Ketuaan	%	70-80	<70 dan >80
Bentuk		Seragam	Seragam
Keseragaman Ukuran		Seragam	Seragam
Kadar Kotoran	% bobot/bobot	0 (bebas)	0 (bebas)
Tingkat Kerusakan Fisik/mekanik	% bobot/bobot	0	0
Tingkat Kesegaran	% bobot/bobot	0	0

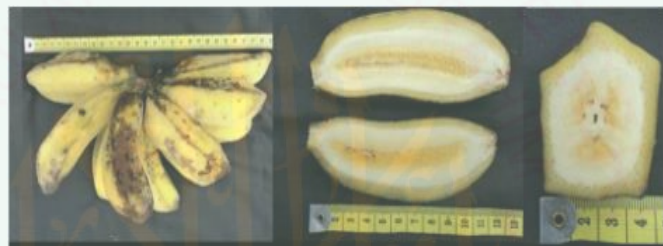
Pisang adalah tanaman yang berasal dari kawasan Asia Tenggara (termasuk Indonesia). Tanaman ini kemudian menyebar luas ke kawasan Afrika

(Madagaskar), Amerika Selatan dan Amerika Tengah. Penyebaran tanaman ini selanjutnya hampir merata ke seluruh dunia, yaitu meliputi daerah tropis dan sub tropis, dimulai dari Asia Tenggara ke timur melalui Lautan Teduh sampai ke Hawaii. Selain itu, tanaman pisang menyebar ke barat melalui Samudera Atlantik, Kepulauan Kanari sampai Benua Amerika (Satuhu dan Supriyadi, 1992).

Semua lapisan masyarakat sangat mengenal dan menyukai buah pisang. Pisang meja merupakan buah yang langsung dikonsumsi dalam bentuk buah segar yang berasal dari hasil persilangan alamiah antara *Musa acuminata* dengan *Musa balbisiana* yang saat ini turunannya lebih dari ratusan jenis pisang, yakni pisang olahan, pisang meja dan pisang hias. Pisang ambon kuning, ambon hijau dan *cavendish* merupakan jenis pisang meja yang sudah terkenal dikalangan masyarakat. Jenis pisang lain banyak dikonsumsi sebagai buah meja dan mempunyai potensi yang cukup tinggi adalah pisang raja (raja bulu), barangan, serta pisang mas (Sunarjono, 1997).

Semua jenis buah pisang memiliki kandungan gizi yang berbeda-beda. Rata-rata dalam setiap 100g daging buah pisang mengandung air sebanyak 70g, protein 1,2g, lemak 0,3g, pati 2,7g dan serat 0,5g. Buah pisang juga kaya akan potassium, sebanyak 400 mg/100g. Potassium merupakan bahan makanan untuk diet karena mengandung nilai kolesterol, lemak dan garam yang rendah. Pisang kaya akan vitamin C, B₆, vitamin A, thiamin, riboflavin dan niacin. Energi yang terkandung dalam setiap 100g daging buah pisang sebesar 275 kJ-465 kJ (Ashari, 2006).

Prabawati, dkk. (2008), menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat buah pisang merupakan karbohidrat kompleks tingkat sedang yang tersedia secara bertahap sehingga dapat menyediakan energi dengan waktu yang tidak terlalu cepat. Dibandingkan dengan karbohidrat yang ada pada gula pasir dan sirup, karbohidrat dalam buah pisang menyediakan energi yang sedikit lambat, namun lebih cepat dari pada nasi, biskuit dan sebagainya. Morfologi pisang kepok dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut ini:



Gambar 2.1 Pisang Kepok (Hapsari and Lestari, 2016)

Pisang kepok di Filipina lebih dikenal dengan nama pisang saba, sedangkan di Malaysia dikenal dengan nama pisang nipah. Bentuk pisang kepok agak pipih sehingga pisang ini sering disebut pisang gepeng. Berat pisang pertandan bisa mencapai 14-22 kg dengan jumlah sisir 10-16 sisir, setiap sisir 12-20 buah. Apabila sudah matang warna kulitnya kuning menyeluruh (Satuhu dan Supriyadi, 1992).

Pisang kepok memiliki ukuran buah yang kecil dengan panjang buah 10-12 cm dengan berat per-buah 80-120g. Kulit buah pisang kepok sangat tebal dengan warna kulitnya kuning kehijauan, bernoda cokelat dan rasa daging buahnya manis (Widyastuti dan Paimin, 1993). Menurut Hidayat (1995), menjelaskan bahwa pisang kepok dapat dibedakan menjadi 3 bagian diantaranya, endokarp merupakan lapisan dalam yang berupa selaput, mesokarp merupakan

bagian yang tebal berada di tengah dan yang paling luar yaitu eksokarp merupakan yang mengandung zat warna buah.

2.2 Kandungan Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Tanaman pisang memiliki kaya akan kandungan yang sangat bermanfaat dibandingkan dengan buah-buah yang lain dalam kulit pisang menyediakan energi dari karbohidrat yang cukup tinggi. Pisang ini kaya akan mineral diantaranya air, kalium, magnesium, lemak, besi, protein, fosfor dan kalsium. Pisang juga mengandung vitamin, yaitu vitamin C, vitamin B kompleks, vitamin B₆ dan juga serotonin yang aktif sebagai neurotransmitter dalam kelancaran fungsi otak (Saraswati, 2005). Analisis fitokimia kandungan kulit pisang kepok diantaranya katekulamin, serotonin dan depamin, antrakuinon dan kuinon (Salau, *et al.*, 2010). Kandungan dalam unsur gizi kulit pisang kepok dapat dilihat pada tabel 2.3 berikut ini:

Tabel 2.3 Kandungan Kulit Pisang Kepok (*Musa parasidiaca* L.)

Unsur	Jumlah
Air (%)	68.90
Karbohidrat (%)	18.50
Lemak (%)	2.11
Protein (%)	0.32
Kalsium (mg/100 gr)	715
Fosfor (mg/100 gr)	117
Besi (mg/100 gr)	1,60
Vitamin B (mg/100 gr)	0.12
Vitamin C (mg/100 gr)	17.50

Sumber: Munadjim (1988)

Pemanfaatan buah pisang tentunya menyisakan limbah yang selama ini dikategorikan sebagai sampah yang sangat banyak, yaitu kulit pisang. Sehingga,

perlu dilakukan proses lebih lanjut pada kulit pisang tersebut. Sebagai produk samping industri pengolahan buah pisang, proporsi kulit pisang adalah sekitar 30-40g/100g berat buah. Menumpuknya kulit pisang yang belum dimanfaatkan dapat menimbulkan permasalahan bagi lingkungan.

Kandungan kimia yang paling utama dalam kulit pisang terdapat pada senyawa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen yang membantu proses daya antibakteri kulit pisang kepek. Senyawa mengandung nitrogen terutama alkaloid, fenolik dan terpen ketiganya termasuk kelompok besar senyawa metabolit sekunder. Pada tanaman pisang umumnya memiliki banyak kandungan karbohidrat yang terdapat pada buah maupun kulit pisang (Saraswati, 2005).

Senyawa metabolit yang terdapat dalam kulit pisang kepek yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen diantaranya yaitu tanin, flavonoid, saponin dan alkaloid. Menurut Ajizah (2004), tanin memiliki sifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Beberapa efek antimikroba yang terdapat pada tanin melewati reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, inaktivasi yang berfungsi sebagai materi genetik atau dapat disebut destruksi. Pertumbuhan bakteri *S. aureus* bisa dihambat dengan senyawa metabolit diantaranya flavonoid dan alkaloid. Zat antimikroba dapat menggunakan golongan senyawa triterpenoid salah satunya adalah saponin (Musalam, 2001). Senyawa polifenol yang berfungsi mengikat dan mempresipitasi protein sehingga bersifat antibakteri adalah tanin. Di dunia pengobatan, tanin dapat mengobati diare, mengobati ambeien dan mengatasi pendarahan.

Unsur antimikroba yang kuat merupakan fenol. Pada konsentrasi yang dapat digunakan (larutan dalam air 1-2%), fenol dan derivatnya dapat menimbulkan denaturasi protein (Brooks *et al.*, 2007). Beberapa keanekaragaman senyawa fenol yang dihasilkan oleh tumbuhan memiliki karakteristik yang sama diantaranya cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil (Harbone, 1987).

Setiap makhluk hidup yang diciptakan-Nya seperti manusia, hewan dan tumbuhan di muka bumi ini tidak diciptakan dengan sia-sia. Sama halnya dengan tumbuh-tumbuhan yang memiliki jumlah sangat banyak, semuanya diciptakan dengan mempunyai kemanfaatan untuk makhluk hidup khususnya manusia. Kehidupan manusia dapat bermanfaat melalui pengamatan dan penelitian terhadap manfaat yang terkandung dalam berbagai macam tumbuhan seperti halnya meneliti kandungan senyawa antibakteri pada tanaman yang dapat berguna bagi masyarakat sebagai solusi untuk mengobati penyakit. Kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam kulit pisang kepok tidak dapat diketahui kecuali oleh orang-orang yang mau berfikir dan meneliti atau dapat disebut dengan *ulul albab*. Hal tersebut sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah ali-Imran (3): 190-191.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا

سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190), (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi

(seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (191)" (QS. Ali-'Imran: 190-191).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir kata *ulul albab*, merupakan orang-orang yang dianugrahi akal yang sempurna dan memiliki kecerdasan. Pada ayat tersebut, dijelaskan bahwa orang yang berakal itu merupakan orang-orang yang mengingat Allah SWT ketika dalam kondisi dengan berdiri, duduk, maupun keadaan berbaring yang diiringi dengan pentafakuran terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah SWT yang terdapat di langit maupun di bumi, maksudnya adalah orang yang masuk dalam kategori *ulul albab* akan memahami semua hikmah yang terkandung didalamnya yang menunjukkan kebesaran Allah dan kekuasaannya seperti misalnya penciptaan langit dan bumi beserta seluruh isinya, yang semuanya itu tidaklah sia-sia akan tetapi terdapat banyak hikmah dan manfaat bagi manusia (Katsir, 2007).

2.3 Potensi Buah Pisang Kepok Sebagai Senyawa Antimikroba

Buah pisang kepok memiliki potensi yang dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen. Hasil penelitian dari Eveline (2011), menyatakan bahwa pemanfaatan ekstrak kulit pisang kepok sebagai antibakteri membuktikan tentang adanya daya hambat bakteri dari senyawa alkaloid, phenolik dan flavonoid dengan zona hambat 5,2-7,5 mm. Ekstrak kental tanaman pisang kepok kuning (*Musa parasidiaca* Linn.) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Ningsih, dkk., 2013). Pada

daging buah pisang mengandung rata-rata 11,21% flavonoid dan 24,6% pada kulit pisang (Fatemeh *et al.* 2012).

Al-qur'an telah menyebutkan sejumlah buah-buahan dengan ilmu pengetahuan terbaru ditegaskan memiliki khasiat untuk mencegah beberapa jenis penyakit. Allah SWT tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda, seperti penggunaan tanaman kulit buah pisang sebagai antimikroba. Allah SWT berfirman dalam surah al-Luqman (31): 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسًا أَن تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Q.S Al-Luqman (31): 10).

Berdasarkan ayat tersebut kata كريم antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Menurut Savitri (2008), tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya yang dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit dan ini merupakan anugrah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan, tidak terkecuali tanaman kulit buah pisang kepok secara berkala dapat digunakan sebagai antidiare (Wijaya,

2010), antioksidan (Supriati, dkk., 2015), antikanker, maupun antidiabetes (Sri Atun, *et al.* 2007).

2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam laktat (BAL) merupakan golongan bakteri Gram positif, tidak memiliki spora (Yousef dan Clastrom, 2003), berbentuk kokus dan batang, tidak motil, termasuk katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat, toleran terhadap asam dan penghasil asam laktat. Diklasifikasikan dengan beberapa perbedaan, diantaranya sebagian besar termasuk bakteri mesofilik, tetapi ada beberapa yang dapat tumbuh pada suhu 4°C atau suhu tinggi (45°C), pH 4-4,5, akan tetapi ada beberapa galur tertentu bisa toleran dan tumbuh pada pH di atas 9 atau pH rendah 3,2 (Bamforth, 2005).

Bakteri asam laktat diisolasi untuk menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik. Manfaat bagi kesehatan yang berkaitan dengan BAL, diantaranya dapat memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan, penurunan serum kolesterol, menghambat tumor, kanker, antimutagenik dan antikarsinogenik, menstimulir sistem imun, pencegahan sembelit, memproduksi vitamin B, bakteriosin dan inaktivasi berbagai senyawa beracun. Konsumsi probiotik dapat menimbulkan efek terapeutik pada tubuh dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989). Beberapa kriteria yang harus dimiliki oleh

mikroorganisme untuk dapat dimanfaatkan sebagai probiotik adalah (Haryanto, 2005):

- 1) Memiliki aktivitas antimikroba
- 2) Resistensi terhadap seleksi saluran pencernaan seperti asam lambung, cairan empedu dan getah pankreas
- 3) Mampu berkoloni dalam saluran pencernaan
- 4) Mampu meningkatkan kemampuan penyerapan usus

Makhluk Allah SWT terkecil ini juga telah disebutkan dalam al-Quran dengan kata-kata "ذرة" sebagai zat atau substansi materi yang paling kecil yang terdapat dalam surah Saba' (34): 3:

وَقَالَ الَّذِينَ كَفَرُوا لَا تَأْتِينَا السَّاعَةُ قُلْ بَلَىٰ وَرَبِّي لَتَأْتِيَنَّكُمْ عَالِمٌ الْغَيْبِ لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَلَا أَصْغَرُ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرُ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُّبِينٍ ﴿٣﴾

"Dan orang-orang yang kafir berkata: "Hari berbangkit itu tidak akan datang kepada kami". Katakanlah: "Pasti datang, demi Tuhanku yang mengetahui yang ghaib, Sesungguhnya kiamat itu pasti akan datang kepadamu. tidak ada tersembunyi daripada-Nya sebesar zarrahpun yang ada di langit dan yang ada di bumi dan tidak ada (pula) yang lebih kecil dari itu dan yang lebih besar, melainkan tersebut dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)" (Q.S Saba' (34): 3).

Berdasarkan ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah SWT tidak hanya menciptakan sesuatu dengan ukuran yang sedang maupun besar, melainkan Allah SWT juga menciptakan sesuatu yang kecil baik yang ada di langit maupun di bumi. Salah satu contoh dari ciptaan Allah SWT yang kecil adalah mikroorganisme, dalam ayat tersebut tertulis dengan kata "ذرة". Organisme mikro ini tidak dapat dilihat dengan mata telanjang karena ukurannya yang sangat kecil,

melainkan dilihat dengan memerlukan alat bantu yang disebut mikroskop, karena mikroba tersusun dari organel-organel kecil penyusun sel yang dalam al-Qur'an disebutkan dengan kata “اصغر من ذاك” (lebih kecil dari itu), yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, salah satunya adalah BAL yang dimasukkan ke dalam makanan untuk dikonsumsi sebagai makanan probiotik.

Sneath *et al.*, (1986), menyatakan bahwa pengelompokannya juga berdasarkan morfologi, metabolit dan sifat-sifat fisiologinya. Deskripsi tentang bakteri ini diantaranya adalah memproduksi asam laktat sebagai komponen utama setelah fermentasi karbohidrat. Beberapa kelompok BAL secara umum dibagi menjadi genus *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* (Sumanti, 2008):

- a. *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus*. Semua spesies tersebut merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (kokus) yang memiliki pola seperti rantai dan memiliki nilai ekonomis yang penting dalam industri susu.
- b. *Pediococcus cerevisiae*, termasuk bakteri Gram positif berbentuk bulat, khususnya terbentuk berpasangan atau berempat (tetrads). Meskipun bakteri ini tercatat sebagai perusak bir dan anggur, akan tetapi memiliki peran penting dalam memfermentasi daging dan sayuran.
- c. *Leuconostoc mesenteriodes* dan *Leuconostoc dextranicum*. Spesies termasuk bakteri Gram positif berbentuk bulat yang memiliki pola berpasangan atau membentuk rantai pendek. Bakteri-bakteri ini berperan dalam perusakan larutan gula dengan produksi pertumbuhan dekstran berlendir. Meskipun

demikian, bakteri ini penting dalam permulaan fermentasi sayuran dan ditemukan dalam sari buah, anggur dan bahan pangan lainnya.

- d. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus delbureckii*. Bakteri-bakteri tersebut berbentuk batang, termasuk Gram positif, berbentuk pasangan dan rantai dari sel-selnya. Jenis umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dibandingkan dengan jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus*. Oleh karena itu, banyak ditemukan pada sayuran.

Beberapa kriteria penting untuk karakter fisiologi yang merupakan seleksi kelayakan bakteri sebagai produk antara lain uji pertumbuhan atau resistensi BAL pada pH rendah. Fetlinski dan Stepaniak (1994), menyebutkan bahwa dapat tidaknya suatu bakteri sebagai probiotik tergantung resistensi BAL terhadap pH rendah, garam empedu dan kemampuan untuk hidup dalam sistem pencernaan.

2.4.1 Pewarnaan Gram

Berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri dibagi menjadi dua yaitu Gram positif dan bakteri Gram negatif (Yuwono dan Susanto, 1998). Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang dapat mempertahankan zat warna ungu (metilviolet, kristal violet atau gentianviolet) meskipun telah didekolorisasi dengan alkohol. Bakteri tersebut, akan tetap mempertahankan warna ungunya dan disertai dengan pengecatan oleh zat warna kontras. Hal ini terjadi, karena kandungan peptidoglikan yang cukup banyak pada bakteri Gram positif yang mampu mempertahankan warna ungu.

Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna setelah didekolorisasi dengan alkohol akan kembali menjadi tidak berwarna. Hal ini, disebabkan oleh banyaknya kandungan lipid yang tidak mampu mempertahankan warna ungu. Apabila diberikan pengecatan dengan zat warna kontras, maka akan berwarna sesuai dengan zat warna kontras (Irianto, 2006).

a) Bakteri Gram positif

Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang mempunyai struktur dinding sel yang tebal (15-80 μm) dan berlapis tunggal (mono). Komponen utama penyusun dinding sel bakteri Gram positif adalah peptidoglikan dan asam trikoat (Pelczar dan Chan, 2008). Asam terikoat ada dua jenis, yaitu asam terikoat ribitol dan asam trikoat gliserol. Fungsi asam terikoat belum sepenuhnya diketahui, namun dapat diperkirakan berperan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel. Asam terikoat mempunyai sifat antigen spesifik sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi spesies-spesies bakteri Gram positif secara serologi (Radji, 2010). Salah satu bakteri yang tergolong bakteri Gram positif adalah *S. aureus*.

b) Bakteri Gram negatif

Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang mempunyai struktur dinding sel yang tipis (10-15 μm) dan berlapis tiga (multi). Dinding selnya meliputi sedikit peptidoglikan dan selaput luar yang mengandung tiga polimer yaitu lipoprotein, fosfolipida dan lipopolisakarida (Pelczar dan Chan, 2008). Komponen lipopolisakarida pada membran luar bakteri Gram negatif mempunyai peranan penting. Gugus polisakarida dan lipopolisakarida yang disebut dengan O-

polisakarida berfungsi sebagai antigen spesifik yang dapat dimanfaatkan untuk membedakan spesies-spesies bakteri Gram negatif (Radji, 2010). Salah satu bakteri yang tergolong bakteri Gram negatif adalah *E. coli*.

2.4.2 Pewarnaan Endospora

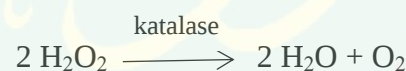
Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia. Tujuan dilakukannya pewarnaan endospora adalah membedakan endospora dengan sel vegetatif, sehingga pembedaanya tampak jelas (Itis, 2008). Menurut Itis (2008), endospora tetap dapat dilihat di bawah mikroskop meskipun tanpa pewarnaan dan tampak sebagai bulatan transparan dan sangat refratik. Namun, jika pewarnaan ini dilakukan dengan sederhana maka akan sulit untuk membedakan endospora dengan badan inklusi (kedua-duanya transparan, sel vegetatif bewarna), sehingga perlu dilakukan teknik pewarnaan endospora.

Spora yang dihasilkan oleh bakteri pada pewarnaan endopora akan menyerap pewarna *malachite green*, sedangkan sel vegetatif akan bewarna merah dikarenakan pewarnaan safranin. Pada pengamatan diketahui bahwa tidak ditemukan endospora pada sel isolat bakteri hasil isolasi dari kulit pisang kepok, karena yang terlihat hanyalah sel vegetatif yang bewarna merah karena pewarna safranin yang telah diberikan. Endospora negatif dari bakteri tersebut merupakan ciri-ciri dari bakteri asam laktat, yaitu Gram positif dengan bentuk sel *basil* dan *coccus* serta endospora negatif yang terlihat dengan tidak adanya spora pada bakteri.

Abubakr dan Adiwish (2017), juga menyatakan bahwa bakteri asam laktat adalah bakteri Gram positif, bukan pembentuk spora, katalase negatif, anaerobik yang dapat tumbuh di lingkungan oksigen dan pada peragian karbohidrat (glukosa dan laktosa) terutama membentuk asam laktat. Termasuk dalam bakteri asam laktat ini adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Bifidobacterium*.

2.4.3 Katalase

Uji katalase dilakukan yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim katalase terhadap H_2O_2 adalah (Raharjo, 2012):



Penelitian Stamer (1979), yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif. Menurut Yousef (2003), mengatakan bahwa telah umum diketahui bahwa bakteri asam laktat memiliki sifat anaerob akan tetapi mampu mentoleransi adanya oksigen dan memetabolisme karbohidrat melalui jalur fermentasi.

2.4.4 Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk bakteri motil atau non motil. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang

menyebar (motil), sedangkan uji negatif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya berupa satu garis (non-motil) (Sudarsono, 2008). Uji motilitas dilakukan dengan diambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dari stok kultur. Pada uji motilitas digunakan media SIM yang mendukung dengan komposisi dari media tersebut untuk memenuhi kebutuhan pengujian yang diinginkan.

2.4.5 Tipe Fermentasi

Fermentasi mempunyai pengertian aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai tinggi, seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, antibiotik dan biopolymer. Fermentasi merupakan proses yang relatif murah pada hakekatnya telah lama dilakukan dari jaman dahulu secara tradisional dengan produk-produknya yang sudah biasa dikonsumsi manusia sampai sekarang, seperti tape, tempe, oncom dan lain-lain (Nurhayati, 2000).

BAL dapat diperoleh dari buah yang telah difermentasi. Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau parsial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Proses fermentasi ini akan mengakibatkan terjadinya perubahan kondisi asam atau penurunan pH (Sari, 2013). Penurunan pH yang terjadi mengindikasikan adanya aktivitas mikroba dalam menguraikan karbohidrat. Ferdiaz (1992), mengatakan bahwa fermentasi merupakan suatu reaksi oksidasi atau reaksi dalam sistem biologi yang menghasilkan energi dimana dan aseptor adalah senyawa organik.

Senyawa organik yang biasa digunakan adalah zat gula. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi senyawa lain.

Fermentasi spontan merupakan proses fermentasi tanpa ditambahkan starter dan terjadi dengan sendirinya, dengan bantuan mikroflora alami. Penggunaan kultur starter *indigenous* (lokal) dari produk aslinya akan memudahkan dalam mengendalikan proses fermentasi serta memberikan hasil fermentasi yang lebih baik dan sesuai karakteristik yang diinginkan (Carl, 1971).

2.4.5.1 Homofermentatif dan Heterofermentatif

Bakteri asam laktat sering digunakan dalam produksi makanan fermentasi, dikarenakan kemampuannya untuk melakukan metabolisme gula dan membuat produk akhir yaitu asam laktat dan asam yang lainnya. Berdasarkan metabolismenya dibagi menjadi 2 jalur fermentatif, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Jalur homofermentatif, lebih dari 90% substrat gula diubah menjadi asam laktat. Sedangkan, heterofermentatif menghasilkan kurang lebih 50% asam laktat dan 50% sebagian asam asetat, etanol dan karbondioksida. BAL dapat memiliki satu atau dua jalur yaitu obligat homofermentatif atau obligat heterofermentatif. Akan tetapi, terdapat beberapa spesies yang memiliki metabolisme yang membutuhkan keduanya (fakultatif homofermentatif) (Ross *et al.*, 2002).

Kelompok homofermentatif diantaranya *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Heterococcus*, *Streptococcus* dan beberapa dari kelompok *Lactobacillus* menggunakan *Embden-Meyerhof-Parnas pathway* yang digunakan untuk merubah 1 mol glukosa menjadi 2 mol laktat. Sedangkan bakteri heterofermentatif

menghasilkan sejumlah laktat, CO₂, dan etanol dengan molar yang sama dari glukosa yang menggunakan jalur heksosa monophosphat atau pentose dan menghasilkan setengah energi dari kelompok homofermentatif. Kelompok ini terdiri dari *Leuconostoc*, *Weissella* dan beberapa *Lactobacillus* (Ross *et al.*, 2002).

BAL yang termasuk homofermentatif dapat dimanfaatkan dalam proses pengawetan makan, karena memproduksi asam laktat dalam jumlah besar dan mampu menghambat bakteri penyebab kebusukan makanan dan bakteri lainnya, sedangkan bakteri yang termasuk golongan heterofermentatif digunakan untuk pembentukan flavor dan komponen aroma, seperti asetaldehida dan diasetil (Fardiaz, 1992).

2.4.6 Pertumbuhan Suhu yang Berbeda

Uji pertumbuhan bakteri pada suhu yang berbeda dilakukan untuk mengetahui termasuk kelompok bakteri mesofilik atau termofilik dengan menggunakan suhu minimum 15°C, suhu optimum 37°C dan suhu maksimum 45°C. Berdasarkan hal ini bakteri asam laktat secara umum dibagi menjadi dua kelompok (Suroso, 2014):

- a) Bakteri Mesofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 25°C dan suhu maksimumnya 37°C-40°C. Contoh bakteri mesofilik adalah genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*.
- b) Bakteri Termofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 37°C-45°C dan suhu maksimum 45°C-52°C. Contoh bakteri genus *Streptococcus* dan homofermentatif *Lactobacillus*.

Menurut Barrow (1993), kisaran temperatur pertumbuhan untuk bakteri asam laktat sekitar 15°C-45°C, sedangkan untuk suhu optimum pertumbuhan bakteri asam laktat pada suhu 30°C-37°C. Kriteria yang juga penting diperhatikan pada saat memilih isolat bakteri asam laktat digunakan sebagai agensia probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang menjadi penghuni saluran pencernaan (Surono, 2004).

2.4.7 Ketahanan Garam (NaCl)

Uji pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl yang berbeda dilakukan untuk mengetahui toleransi bakteri terhadap garam empedu yang merupakan prasyarat untuk kolonisasi dan aktivitas metabolik bakteri di usus kecil manusia. Bakteri asam laktat yang dapat bertahan pada konsentrasi garam empedu akan mencapai usus kecil dan usus besar sehingga dapat menyeimbangkan mikroflora didalam pencernaan manusia (Thakkar, 2015). Menurut Axelsson (2004), yang dapat hidup pada konsentrasi garam 6,5% apabila berbentuk batang maka termasuk ke dalam salah satunya genus *Lactobacillus*, sedangkan apabila berbentuk bulat maka termasuk salah satunya genus *Leuconostoc*.

2.5 Antimikroba

2.5.1 Pengertian Antimikroba

Antibakteri adalah suatu komponen kimia yang berkemampuan dalam menghambat pertumbuhan atau berkemampuan dalam mematikan bakteri (Volk, dkk., 1993). Berdasarkan definisi diatas dapat diartikan bahwa antibakteri adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan menghambat dan mematikan bakteri.

Kategori daya hambat antimikroba dapat dilihat pada tabel 2.4 dan ciri-ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dilihat pada tabel 2.5 sebagai berikut:

Tabel 2.4 Kategori Daya Hambat Antimikroba

Daerah Diameter Hambatan (mm)	Kategori
< 5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
>20	Sangat Kuat

Sumber: Davis dan Stoud (1971)

Tabel 2.5 Beberapa ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif

Ciri-ciri	Gram Positif	Gram negatif
Struktur dinding sel	• Tebal (15-80 mm) • Berlapis tunggal (mono)	• Tipis (10-15 mm) • Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	• Kandungan lipid rendah (1-4%) • Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal: jumlahnya lebih dari 50% berat kering pada beberapa antibakteri • Asam terkoat	• Kandungan lipid tinggi (11-22%) • Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam: jumlahnya sekitar 10% berat kering • Tidak ada asam terkoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan

Sumber: Pelczar dan Chan (2008)

Penggunaan antibakteri bertujuan untuk pengendalian terhadap bakteri yaitu untuk menghambat, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan dan kerusakan oleh bakteri. Senyawa antibakteri berasal dari tumbuhan atau bahan-bahan kimia. Antibakteri dapat berupa zat padat, cair

dan gas yang dicirikan oleh komposisi molekuler yang pasti dan menyebabkan terjadinya reaksi (Pelczar and Chan, 2008). BAL dapat menghasilkan senyawa-senyawa tertentu selain asam laktat dan asam asetat. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya H_2O , diasetil dan bakteriosin yang relatif sedikit dibandingkan dengan produksi asam organik (Suryani, 2010).

2.5.2 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba merupakan pengukuran respon dari pertumbuhan populasi mikroba terhadap agen antimikroba. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroba pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroba (Sulistyo, 1971).

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (dilusi). *Disc diffusion test* atau uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambat pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dalam substrat cair. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan (sensitivitas) yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan, *et al.*, 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang (sumuran) dan metode cakram kertas. Metode lubang (sumuran) yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan substrat yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi,

pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustin, 2007). Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi

ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan.

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diinokulasi bakteri uji dan kemudian didiamkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan dilusi agar memakan waktu dan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai. Namun, kini ada cara sederhana dan banyak dipakai yakni menggunakan *microdilution plat* keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini membenarkan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan mikroba bakteri (Brooks *et al.*, 2007).

2.5.3 Mekanisme Antibakteri

Menurut Pelczar dan Chan (2008), mekanisme antibakteri dalam melakukan efeknya terdapat mikroorganisme merupakan sebagai berikut:

1) Merusak Dinding Sel

Dinding sel merupakan sebagian yang berfungsi membentuk dan melindungi sel, mengatur pertukaran zat-zat dari dalam sel serta memegang peranan penting dalam pembelahan sel. Kerusakan pada dinding sel akan

berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian. Mekanisme masuknya bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif berbeda seperti terlihat pada gambar 2.2 dibawah ini. Pada Gambar 2.2 pada bakteri Gram positif, bahan antimikroba dapat langsung masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein, selanjutnya dapat menyebabkan bakteri tersebut lisis. Sedangkan pada bakteri Gram negatif bahan tersebut masuk melalui porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein.

2) Perubahan Permeabilitas Membran Sel

Membran sel berfungsi dalam memelihara integritas komponen-komponen seluler yang secara efektif mengatur keluar masuknya zat antara sel dengan lingkungan luar. Kerusakan pada membran sel akan memungkinkan ion organik, nukleotida, asam amino dan enzim keluar dari sel.

3) Perubahan Molekul Protein dan Asam Nukleat

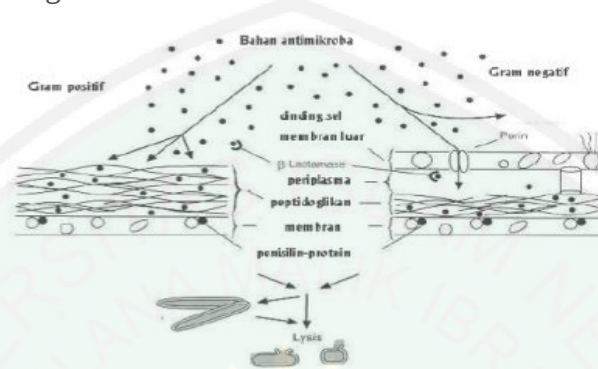
Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan denaturasi komponen-komponen seluler secara vital.

4) Penghambatan Kerja Enzim

Suatu sel yang normal memiliki sejumlah enzim untuk membantu kelangsungan proses metabolisme bersama protein yang lain. Penghambatan pada kerja enzim dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5) Penghambatan atau Sintesa Asam Nukleat dalam Protein

AND, ARN dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan sel. Gangguan yang terjadi pada proses pembentukan fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel.



Gambar 2.2 Mekanisme Bahan Antimikroba terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif

2.6 Bakteri Uji

2.6.1 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen dan bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia.

Menurut Garrity (2004), taksonomi *E. coli* adalah:

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

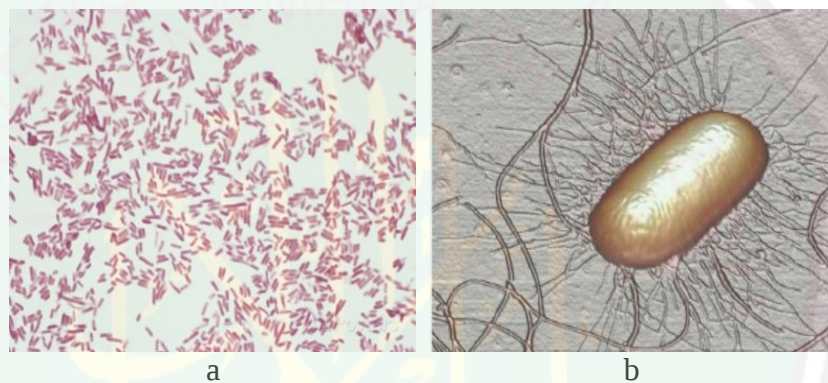
Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm

dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung dan halus dengan tepi yang nyata. Spesies ini bersifat motil dengan flagel petritrik yang dimilikinya, tetapi beberapa ada yang non-motil. *E. coli* memiliki flagel petrikus karena flagelnya terdapat di sekujur tubuh. Selain itu, bakteri ini juga memiliki pili yaitu berupa fibril dan diatur oleh F-plasmid (Purwoko, 2007). Morfologi bakteri *E. coli* dapat dilihat pada gambar 2.3 berikut ini:



Gambar 2.3 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*; a) Pengamatan Hasil Pewarnaan Gram; b) Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron (Kunkel, 2004)

E. coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dalam sel tunggal atau berpasangan, merupakan anggota family *Enterobacteriaceae* dan flora normal intestinal yang mempunyai kontribusi pada fungsi normal usus dan nutrisi. Akan tetapi, bakteri ini dapat menjadi patogen apabila mencapai diluar jaringan intestinal. Bakteri *E. coli* merupakan jasad indikator dalam substrat air dan bahan makanan yang mampu memfermentasi laktosa pada temperatur 37°C dengan membentuk asam dan gas dalam waktu beberapa jam. Bakteri ini berpotensi patogen karena pada keadaan tertentu dapat menyebabkan diare (Suriawiria, 1996).

E. coli biasanya dapat berkolonisasi di dalam saluran pencernaan setelah beberapa jam masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik. Namun, strain non-patogenik dari *E. coli* dapat menjadi patogen ketika adanya gangguan di dalam pencernaan serta imunosupresi pada host (Suriawiria, 1996). Sifat-sifat *E. coli* yang penting adalah bakteri ini dapat memfermentasi laktosa dengan memproduksi asam dan gas, mereduksi nitrat menjadi nitrit, bersifat katalase positif dan oksidase negatif (Fardiaz, 1992). Bakteri *E. coli* dapat tumbuh baik pada hampir semua media yang dapat digunakan didalam laboratorium mikrobiologi.

2.6.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *S. aureus* menurut Garrity (2004), sebagai berikut:

Filum : Eubacteria

Kelas : Firmicutes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

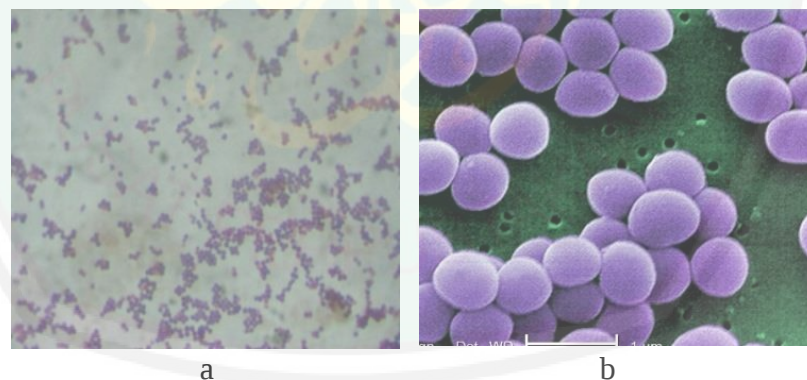
Genus : *Staphylococcus*

Spesies: *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat yang terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan, tetrad, atau berkelompok seperti buah anggur. Nama bakteri ini berasal dari bahasa latin “*staphele*” yang berarti anggur. Beberapa spesies memproduksi pigmen berwarna kuning sampai orange, seperti *S.*

aureus. Bakteri ini membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk pertumbuhan dan bersifat anaerob fakultatif.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dan mempunyai karakteristik berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar 20-25°C. Koloni pada pembedahan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2011). Morfologi bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*: a) Pengamatan Hasil Pewarnaan Gram; b) Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron (Kunkel, 2004)

Pada kebanyakan pembedahan bakteriologi *S. aureus* mudah tumbuh dalam keadaan mikroaerobik atau aerobik, pada suhu kamar 37°C maka bakteri akan tumbuh optimal, pada suhu kamar 20°C paling baik dalam membentuk

pigmen dan pada pembedahan padat koloni berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilau membentuk pigmen pada media dengan pH 7,2-7,4 (Jawetz *et al.*, 2011).

2.7 Media Selektif MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De mann Rogosa Sharpe Broth*)

Untuk mengembangbiakkan mikroorganisme seperti kapang, khamir, jamur ataupun lainnya diperlukan medium. Medium merupakan suatu media untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunannya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang kita inginkan. Media yang digunakan dalam isolasi ini adalah MRS *Agar* dan MRS *Broth* merupakan media yang diperkenalkan oleh De Mann, Rogosa dan Sharpe (1960), untuk memperkaya, menumbuhkan dan mengisolasi jenis *Lactobacillus* dari seluruh jenis bahan. MRS mengandung polysorbat, asetat, magnesium dan mangan yang diketahui untuk berinteraksi atau bertindak sebagai faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus*, sebaik nutrient diperkaya MRS *Agar* tidak sangat selektif, sehingga ada kemungkinan *Pediococcus* dan *Leuconostoc* serta jenis bakteri lain yang tumbuh. Komposisi media MRSA adalah pepton 10 g, beef extract 10 g, yeast extract 5 g, K_2HPO_4 2 f, amonium sitrat 2 g, glukosa 2 g, sodium asetat $3H_2O$ 20 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,58 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0,28 g, agar 15 g, akuades 1000 mL, sedangkan MRSB merupakan media yang serupa dengan MRSA yang berbentuk cair/*broth* (Oxoid, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kualitatif meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia serta Karakterisasi Fisiologi, sedangkan penelitian kuantitatif dengan menguji isolat bakteri asam laktat yang digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang diperoleh dari Desa Kesamben Wetan, Kecamatan Driyorejo, Kabupaten Gresik.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - Juli 2018 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab timbulnya perubahan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini jenis BAL dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengamatan makroskopik (morfologi koloni berdasarkan bentuk, warna dan jumlah), pengamatan mikroskopik (pewarnaan Gram dan uji endospora), uji biokimia serta karakterisasi fisiologi BAL (uji katalase, uji tipe fermentasi, uji motilitas, uji ketahanan suhu dan uji ketahanan garam) dan zona hambat yang didapatkan pada aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini terdiri dari media penanaman dan isolat bakteri dalam kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) yaitu media MRS (*De Man Rogosa Sharpe*), *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan media penanaman yaitu *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA), suhu inkubasi 37°C.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *hot plate*, autoklaf, timbangan analitik, mikropipet, mikroskop, lemari es, tabung durham, vortex, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF) dan peralatan mikrobiologi seperti *beaker glass*, gelas ukur, batang pengaduk, bunsen, spatula, cawan petri, tube, *blue tip*, pinset, erlenmeyer, korek api, jarum ose, *magnetic stirrer*, tabung reaksi dan rak tabung reaksi.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) isolat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, media NA (*Nutrient Agar*), media *Nutrient Broth* (NB), media *De Mann rogosa shape Agar* (MRSA), media *De Mann rogosa shape Broth* (MRSB), media *Sulphide Indole and Motility* (SIM), aquades steril, spirtus, pewarnaan Gram (larutan kristal violet, iodium, etanol 96%, safranin, *malachite* hijau, H₂O₂ 3%), NaCl 4% dan 6,5%, alkohol 70%, aluminium foill, plastik *wrap*, kertas cakram, kantong plastik tahan, kertas label, tissue dan kapas.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan menggunakan sterilisasi fisik dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan alkohol 70% semua kegiatan dilakukan didalam IAF (*Laminary Air Flow*).

3.5.2 Pembuatan Media

a. Media MRSA dan MRSB

Media MRS Agar ditimbang sebanyak 6,28 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL. Sedangkan media MRS *Broth* ditimbang sebanyak 5,15 gram dalam 100 mL aquades. Kemudian masing-masing media ditutup dengan kapas dan kasa setelah itu, diletakkan di atas *hot plate* hingga

mendidih dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Ismail, dkk., 2017).

b. Media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB)

Media NA ditimbang sebanyak 2,3 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades 100 mL. Sedangkan media NB ditimbang sebanyak 10 gram dalam 500 mL aquades. Kemudian masing-masing media ditutup dengan kapas dan kasa setelah itu, diletakkan di atas *hot plate* hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, suhu 121°C (Ismail, dkk., 2017).

c. Media *Sulphide Indole and Motility* (SIM)

Media SIM ditimbang sebanyak 3,0 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL. Kemudian media ditutup dengan kapas dan kasa setelah itu, diletakkan di atas *hot plate* hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sebanyak 5 mL media dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi tegak (Ismail, dkk., 2017).

3.5.3 Isolasi BAL dari Kulit Pisang Kepok

Pisang dikupas dan diiris membentuk lembaran dengan ketebalan sekitar 5 mm. Sebanyak 750 gram irisan pisang dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 1000 mL aquades steril dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam. Selanjutnya 1 mL air rendaman dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL aquades steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} dan

dilakukan hingga pengenceran 10^{-3} . Kemudian dilakukan pemupukan masing-masing pengenceran pada medium MRS Agar menggunakan metode *pour plate* (tuang) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Koloni tunggal dimurnikan dengan metode goresan *quadrant streak* selanjutnya diseleksi berdasarkan bentuk koloni, sifat Gram positif, katalase negatif dan bentuk morfologi (kokus atau batang). Isolat diinokulasikan dalam media MRS Broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Nurhayati, 2011).

3.5.4 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan mengkarakterisasi morfologi BAL dengan tiga cara, yaitu pengamatan makroskopis (warna, bentuk, dan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada medium MRSA), pengamatan mikroskopis (pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora) dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi (uji katalase, uji tipe fermentasi, uji motilitas, uji ketahanan suhu dan uji ketahanan garam), yang mengacu pada *Bergey's Manual Determinative Bacteriology 9th*.

3.5.4.1 Pengamatan Makroskopis

Koloni BAL tunggal yang telah dimurnikan diamati secara makroskopis. Setelah masa inkubasi 48 jam, dilakukan pengamatan morfologi koloni berdasarkan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada medium MRS Agar, bentuk dan warna. Koloni tersebut kemudian dimurnikan dengan metode *quadrant streak* pada media MRS Agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan subkultur koloni tunggal yang diperoleh pada media MRS Agar miring yang digunakan sebagai stok isolat untuk tahap selanjutnya. Masing-

masing jenis isolat diidentifikasi karakter fisiologisnya menggunakan uji pewarnaan Gram dan uji endospora.

3.4.5.2 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis BAL dilakukan dengan mengkarakterisasi karakter fisiologisnya meliputi pewarnaan Gram dan uji endospora sebagai berikut:

1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk bakteri Gram positif atau Gram negatif, pada tahap ini juga dapat dilihat bakteri tersebut memiliki bentuk bulat maupun batang. Pada kultur bakteri inkubasi selama 24 jam yang ditumbuhkan pada media MRS Agar (Suryani, dkk., 2010). Preparat disterilkan menggunakan 2 tetes aquades steril. Diambil isolat BAL sebanyak satu ose kemudian digoreskan pada gelas benda dan difiksasi diatas api bunsen selama 5 detik, kemudian dipipet 1 tetes larutan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades. Dipipet 1 tetes larutan iodium di atas preparat dan didiamkan selama 1 menit. Preparat dibilas menggunakan 1 tetes alkohol 70%. Selanjutnya ditambahkan safranin dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades diatas preparat. Preparat dikeringkan (kertas serap) dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Warna ungu menunjukkan sel bakteri termasuk bakteri Gram positif dan warna merah muda menunjukkan sel bakteri termasuk Gram negatif (Sari, dkk., 2012).

2. Uji Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki endospora atau non-spore. Pewarnaan endospora dilakukan dengan cara preparat diberikan 2 tetes aquades steril. Kultur bakteri yang berumur 24 jam diambil sedikit menggunakan jarum ose dan difiksasi di atas api bunsen selama 5 detik. Kemudian, dipipet *malachite green* dan ditambahkan diatas gelas benda, selanjutnya diuapkan di atas api bunsen selama 1 menit, dan bilas dengan aquades. Dipipet safranin dan ditambahkan diatas preparat. Setelah itu, didiamkan selama 60 detik kemudian dibilas dengan air mengalir dan preparat dikeringkan (kertas serap). Preparat diamati dengan mikroskop, jika sel vegetatif berwarna merah dan spora berwarna hijau maka termasuk uji positif (Lay, 1994).

3.5.4.3 Uji Biokimia dan Karakterisasi Fisiologi

1) Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki enzim katalase untuk memproduksi efek toksik H_2O_2 . Uji katalase dilakukan dipipet aquades ditetaskan pada preparat dan diambil satu ose isolat bakteri dan diratakan. Selanjutnya dipipet H_2O_2 3% sebanyak 2-3 tetes. Jika hasil uji negatif maka akan ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas yang berisi oksigen (Suryani, dkk., 2010). Sebagai kontrol positif untuk uji katalase digunakan bakteri *S. aureus*, sedangkan kontrol negatif digunakan bakteri *Lactobacillus* sp.

2) Uji Tipe Fermentasi

Uji fermentasi dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk bakteri homofermentatif atau heterofermentatif. Uji fermentasi dilakukan dengan

mengambil satu koloni isolat bakteri ditumbuhkan pada media MRS *Broth* sebanyak 5 mL pada tabung reaksi yang sudah diberi tabung durham. Sebagai kontrol positif untuk uji fermentasi digunakan bakteri *Lactobacillus* sp., sedangkan kontrol negatif digunakan media MRS *borth* tanpa pemberian inokulasi kultur isolat. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri yang menghasilkan gas (CO₂) dalam tabung durham isolat termasuk kelompok heterofermentatif, sedangkan yang tidak menghasilkan gas (CO₂) isolat termasuk kelompok homofermentatif (Romadhon *et, al.* 2012).

3) Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk bakteri motil atau non-motil. Uji motilitas dilakukan dengan diambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dari stok kultur kemudian ditusukkan ke dalam media SIM pada tabung reaksi menggunakan jarum ose tusuk steril. Sebagai kontrol positif untuk uji motilitas digunakan bakteri *Lactobacillus* sp., sedangkan kontrol negatif digunakan media SIM tanpa pemberian inokulasi kultur isolat. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar (motil) dan uji negatif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya berupa satu garis (non motil) (Sudarsono, 2008).

4) Uji Pertumbuhan Bakteri pada Suhu yang Berbeda

Uji pertumbuhan bakteri pada suhu yang berbeda dilakukan untuk mengetahui termasuk kelompok bakteri mesofilik atau termofilik. Uji pertumbuhan bakteri pada suhu yang berbeda dilakukan dengan diambil kultur

bakteri berusia 24 jam sebanyak 1 ose diinokulasikan pada media MRS *Broth* kemudian diinkubasi selama 2 hari pada suhu 15°C, 37°C dan 45°C. Sebagai kontrol positif untuk uji pertumbuhan bakteri pada suhu yang berbeda digunakan bakteri *Lactobacillus* sp., sedangkan kontrol negatif digunakan media MRS *Broth* tanpa pemberian inokulasi kultur isolat. Tingkat pertumbuhan bakteri diamati secara visual berdasarkan intensitas kekeruhan (Thakkar, *et al.*, 2015).

5) Uji Pertumbuhan Bakteri pada Konsentrasi NaCl yang Berbeda

Uji pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl 4% dan 6,5% dilakukan untuk mengetahui termasuk golongan bakteri yang tahan terhadap garam rendah atau tinggi. Uji pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl yang berbeda dilakukan dengan diambil kultur bakteri yang berusia 24 jam sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke media MRS *Broth* kemudian ditetesi dengan larutan NaCl 4% dan 6,5% kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Sebagai kontrol positif untuk uji pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl yang berbeda digunakan bakteri *Lactobacillus* sp., sedangkan kontrol negatif digunakan media MRS *Broth* tanpa pemberian inokulasi kultur isolat. Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan dalam tabung (Guessas dan Kihal, 2004).

3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

3.5.5.1 Pembuatan Bakteri Uji

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat dengan cara mengambil bakteri sebanyak 1 ose yang mengandung *E. coli* dan *S. aureus* kemudian digoreskan pada media NA dilakukan dengan aseptis. Setelah itu,

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian mengambil 1 koloni dan ditanam sampai mencapai kekeruhan 0,5 McFarland (Ngajow, *et al.*, 2013).

3.5.5.2 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

1. Kultur Bakteri Asam Laktat (BAL)

Suspensi bakteri dibuat dengan cara, masing-masing kultur bakteri asam laktat sebanyak 2-3 ose dari kultur stok diinokulasikan ke dalam 10 mL media MRS *Broth* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Suspensi bakteri dibuat dengan cara, masing-masing bakteri uji pada agar miring media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam dan telah tumbuh koloninya kemudian diinokulasikan ke media NB sebanyak 10 mL dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.5.3 Uji Antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

Uji aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Metode yang digunakan uji difusi sumuran dengan ukuran diameter 6 mm. Setelah dibuat masing-masing suspensi bakteri, pertama diambil media NB sebanyak 25 µL bakteri uji tersebut diinokulasikan ke dalam medium NA sebanyak 50 mL yang masih cair, dikocok merata kemudian dituangkan media NA yang sudah diinokulasi masing-masing bakteri uji ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 10 mL. Setelah agar mengeras, dibuat lubang sumur dengan diameter sekitar 6 mm menggunakan tip pipet 1 mL steril. Kemudian diambil 50 µL kultur BAL masing-masing ditetaskan ke dalam lubang sumur yang berbeda dalam satu cawan kemudian diinkubasi dengan posisi cawan tidak terbalik pada

suhu 37°C selama 2 hari (Rachmawati, dkk., 2005). Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Streptomisin yang digunakan sebagai kontrol positif. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades steril.

Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji antibakteri, dilakukan pengukuran diameter daerah hambat yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar sumuran dengan menggunakan penggaris milimeter (jangka sorong). Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening (zona hambat). Cara menghitung luas zona hambat yaitu (Desniar, 2012):

$$Lz = Lav - Ld$$

Keterangan:

Lz = Diameter zona hambat (mm)

Lav = Diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran (mm)

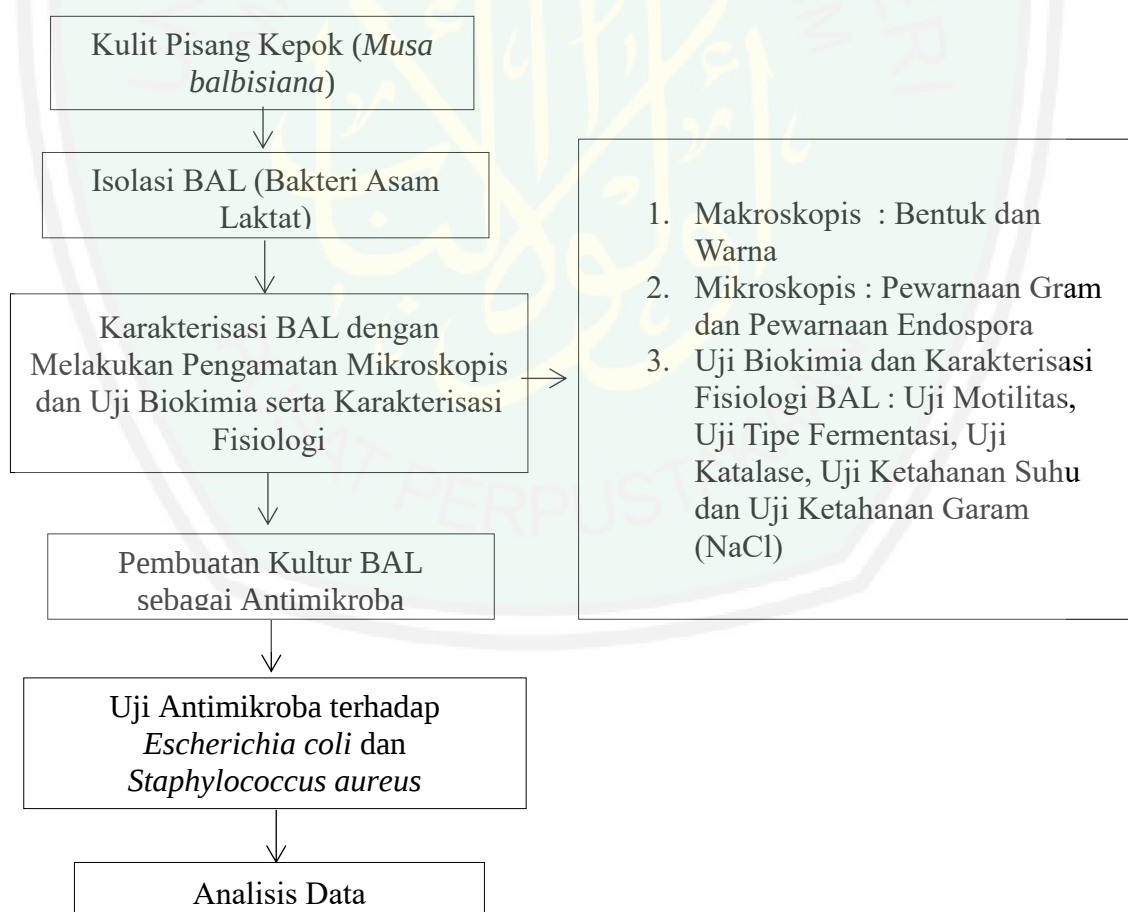
Ld = Diameter lubang sumuran (6 mm)

3.6 Analisi Data

Data yang didapat dari hasil identifikasi disajikan berupa kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif antara lain pengamatan makroskopis (warna, bentuk, ukuran koloni), pengamatan mikroskopis (pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora) dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi (uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji ketahanan suhu, dan uji ketahanan garam (NaCl), sedangkan kuantitatifnya antara lain uji aktivitas antibakteri oleh isolat BAL yang diperoleh dengan mengukur zona bening yang terlihat di sekitar sumuran dengan

menggunakan jangka sorong. Data yang diamati meliputi zona hambat isolat BAL dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* akan dianalisis secara kuantitatif menggunakan SPSS 20. Data hasil pengamatan akan dianalisis dengan menggunakan ANOVA faktorial 5% dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk membandingkan antar perlakuan. Dimana sebelum dilakukan uji ANOVA data terlebih dahulu di uji normalitas dan uji homogenitas.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Isolasi bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) dilakukan dengan cara merendam kulit pisang. Perendaman kulit pisang kepok merupakan inkubasi secara alami yang dilakukan tanpa penambahan mikroba dari luar (starter) dan terjadi dengan sendirinya dengan bantuan mikroflora *indigenous* (lokal). Menurut Moulay *et al.* (2013), mengatakan bahwa umumnya bakteri asam laktat tersebar luas sebagai mikroflora *indigenous* (lokal) di alam dan juga dapat ditemukan dalam susu mentah, susu fermentasi ataupun buah yang difermentasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan 5 isolat yang diisolasi dari kulit pisang kepok yang telah dilakukan perendaman dengan aquades steril. Hasil isolat bakteri yang berhasil ditumbuhkan pada medium MRS Agar, yang membuktikan bahwa pada kulit pisang kepok terdapat bakteri asam laktat. Allah SWT telah berfirman dalam al-Qur'an surat adz-Dzariyat (51): 20:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ ﴿٢٠﴾

“Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin ” (Q.S. Adz-Dzariyat 51: 20).

Ayat di atas menunjukkan bahwa dalam segala sesuatu yang telah diciptakan Allah SWT serta kejadian-kejadian yang terjadi di dalamnya, terdapat kekuasaan-kekuasaan Allah SWT yang lain, dapat dilihat dan diteliti bagi orang-

orang yang yakin. Seperti adanya bakteri asam laktat yang diperoleh dari kulit pisang kepok yang telah didiamkan, dalam hal ini melalui proses fermentasi, karena bakteri asam laktat dapat ditemukan dari buah yang telah difermentasi (Sari, 2013). Bakteri asam laktat diisolasi yang bertujuan untuk menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik.

Selain itu, Savadogo (2004), menyatakan bahwa bakteri asam laktat dalam industri makanan memiliki reputasi aman untuk mengontrol patogen pada makanan, karena bakteri asam laktat dapat memproduksi berbagai komponen antimikroba seperti asam organik, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin atau protein bakterisidal selama fermentasi laktat. Aween *et al.* (2012), menambahkan bahwa kelompok bakteri asam laktat bersifat non-patogenik dan aman digunakan dengan status *General Recognize as Safe* (GRAS), tahan asam, empedu toleran dan menghasilkan zat antimikroba, termasuk asam organik dan hidrogen peroksida dan bakteriosin (protein aktif secara biologis).

4.2 Karakterisasi BAL dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

4.2.1 Karakterisasi Makroskopis

Karakterisasi secara makroskopis dilakukan untuk mengetahui bentuk koloni, warna koloni dan bentuk permukaan koloni, yang dilakukan dengan cara memilih strain isolat yang berbeda setelah proses isolasi tahap pertama. Koloni yang diduga bakteri asam laktat berwarna putih hingga putih kekuningan, berbentuk bulat dengan tepian berwarna bening. Koloni bakteri asam laktat ditemukan berdasarkan perubahan warna media menjadi kuning muda (atau putih

susu) di sekitar lokasi tumbuh koloni bakteri. Isolat bakteri asam laktat yang memiliki koloni yang sama dianggap sebagai satu jenis (strain). Adapun hasil dari karakterisasi makroskopis disajikan dalam tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1 Hasil Bentuk Makroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Isolat	Morfologi				
	Bentuk Koloni	Warna	Tepian	Elevasi (Permukaan)	Diameter (cm)
KP1	Sirkuler	Putih susu	Rata	Convex	0,3
KP2	Sirkuler	Kekuningan	Rata	Umbonate	0,1
KP3	Sirkuler	Putih susu	Rata	Convex	0,2
KP4	Sirkuler	Putih susu	Rata	Convex	0,1
KP5	Sirkuler	Kekuningan	Rata	Umbonate	0,2

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 4.1 diatas, dapat diketahui bahwa terdapat bakteri asam laktat dalam kulit pisang kepok yang telah diinkubasi. Hasil pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa keseluruhan isolat yang diperoleh memiliki bentuk koloni bulat dengan warna putih hingga putih kekuningan, yang diduga merupakan kelompok bakteri asam laktat. Tepian koloni dari kelima isolat berbentuk enpitire atau rata, dengan elevasi koloni dari isolat KP1, KP3 dan KP4 convex, yaitu berbentuk cembung seperti tetesan air, sehingga diduga bentuk permukaan koloni yang menyebabkan berbedanya warna koloni saat diamati secara langsung, sedangkan isolat KP2 dan KP5 dengan elevasi umbonate yaitu berbentuk cembung namun bagian tengah lebih menonjol sehingga diduga bentuk permukaan koloni yang berbeda. Holdeman dan Gato (1977), koloni *Lactobacillus* berbentuk bulat rata dan tidak

berserat serta memiliki ukuran 0,5-2 mm, maka isolat yang digunakan merupakan isolat bakteri asam laktat dengan genus *Lactobacillus*.

Dwidjoseputro (2005), menyatakan bahwa pengamatan makroskopis morfologi koloni yakni bentuk koloni (dilihat dari atas), permukaan koloni (dilihat dari samping), tepi koloni (dilihat dari atas) dan warna koloni. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1994), bakteri merupakan kelompok prokariotik karena belum memiliki organel-organel sel yang kompleks, sehingga terdapat perbedaan struktur pada dinding sel bakteri. Oleh sebab itu ada 4 kategori pada umumnya yang perlu diketahui, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yang mempunyai dinding sel, bakteri berdinding sel tidak sempurna dan *archaeobacteria*.

Karakterisasi makroskopis pada isolat (strain) bakteri asam laktat yang berbeda kemudian dilanjutkan dengan karakterisasi mikroskopis meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, selanjutnya dilakukan dengan uji biokimia dan karakterisasi fisiologi yang meliputi uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji ketahanan suhu dan uji ketahanan NaCl (garam) yang kemudian dilakukan dengan melihat aktivitas antibakteri BAL dari kulit pisang kepok.

4.2.2 Karakterisasi Mikroskopis

Karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram, endospora dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi. Hasil rendaman (fermentasi) bergantung pada jenis bahan pangan (substrat), jenis mikroba dan kondisi di sekitarnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut.

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Genus bakteri yang tumbuh selama proses perendaman berbeda.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora, maka dapat dipastikan bahwa kelima isolat adalah kelompok bakteri asam laktat. Hasil karakterisasi mikroskopis isolat bakteri asam laktat dari rendaman aquades kulit pisang kepok tertera pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Mikroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

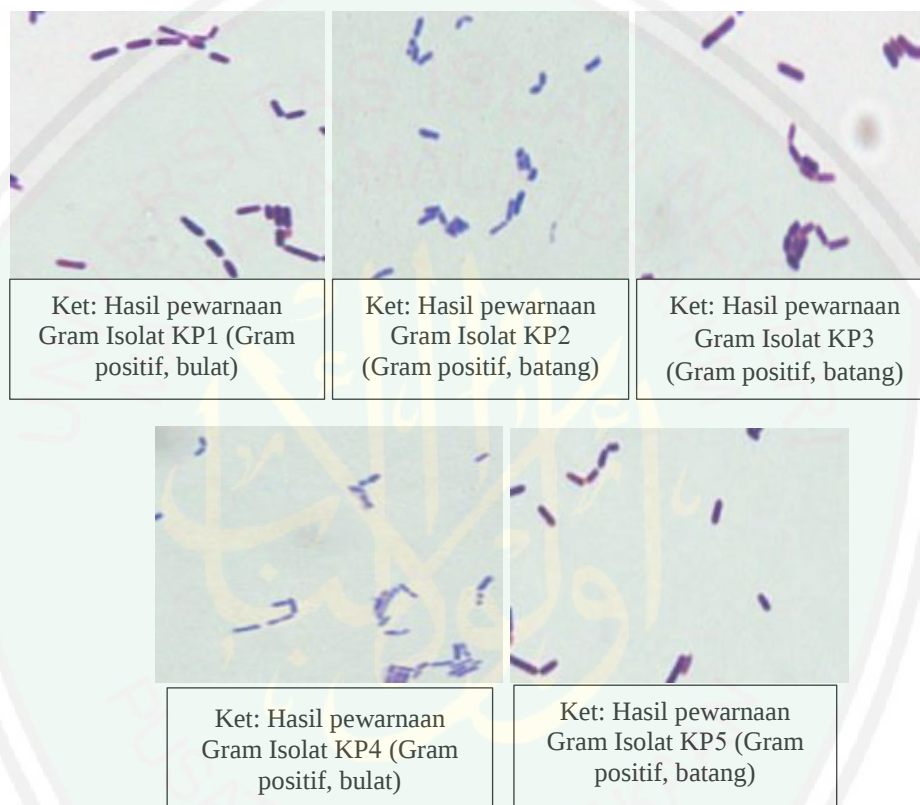
Pengamatan	Isolat				
	KP1	KP2	KP3	KP4	KP5
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+
Bentuk Sel	bulat	batang	batang	bulat	batang
Endospora	-	-	-	-	-

Ketrangan: Reaksi positif (+), Reaksi negatif (-)

4.2.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui jenis Gram dari proses isolasi bakteri dari objek penelitian, yang merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Lapisan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Menurut Brooks *et al.* (2007), bakteri Gram positif memiliki unsur khusus, yaitu teichoic sebanyak 50% dari berat kering dinding sel. Unsur ini memiliki fungsi untuk menjaga transportasi ion, integritas dinding sel, sehingga resisten terhadap autolisis dan menjaga permeabilitas eksternal.

Kemampuan itulah yang menjadi dasarnya termasuk golongan bakteri Gram positif sebagai probiotik karena secara morfologi dan biokimia lebih mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 4.1 sebagai berikut:



Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram Mikroskopis Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Hasil pewarnaan Gram pada kelima isolat bakteri dari rendaman (fermentasi) kulit pisang kepok adalah Gram positif, yaitu sel bakteri bewarna ungu setelah dilakukan pengecatan Gram yang menunjukkan ada yang berbentuk bulat maupun batang dan termasuk bakteri Gram positif (Gambar 4.1). Hal tersebut dikarenakan bakteri ini memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan

dengan alkohol yang menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna kristal violet yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel (Pleczar and Chan, 2008).

Hasil uji pewarnaan Gram terhadap kelima isolat dari kulit pisang kepok yang telah dilakukan fermentasi (rendaman) menghasilkan beberapa isolat yang memiliki bentuk morfologi sel batang dengan susunan berantai, dan diduga ini merupakan genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*. Menurut Sneath (1986), berdasarkan *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, kelompok bakteri asam laktat berbentuk batang dan bulat yang memiliki katalase negatif dan hasil pengecatan Gram bersifat positif merupakan bakteri asam laktat Genus *Lactobacillus*. Hasil penelitian Nurhayati (2011), BAL juga terdapat pada fermentasi pisang var. Agung semeru ditemukan BAL dengan genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Weissella*. Semua isolat yang didapatkan dari proses isolasi diwarnai dengan melakukan pewarnaan Gram.

Menurut Timotus (1982), dinding sel bakteri Gram positif tersusun dari dua lapisan saja, yaitu hanya berupa lapisan peptidoglikan yang relatif tebal dan membran dalam. Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel, yaitu lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein, lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis dari pada lapisan peptidoglikan pada Gram positif. Dinding sel bakteri Gram positif ditunjukkan warna ungu pada sel dan Gram negatif ditunjukkan warna merah pada sel. Lapisan peptidoglikan inilah yang mengikat zat warna kristal violet. Zat warna yang telah diikat oleh dinding sel bakteri ini tidak akan hilang setelah

proses pelunturan dengan alkohol (Ermawati, 2016). Menurut Sutrisna (2013), menjelaskan adanya warna ungu pada hasil pengecatan Gram menunjukkan bahwa kristal violet dapat diserap oleh sel bakteri.

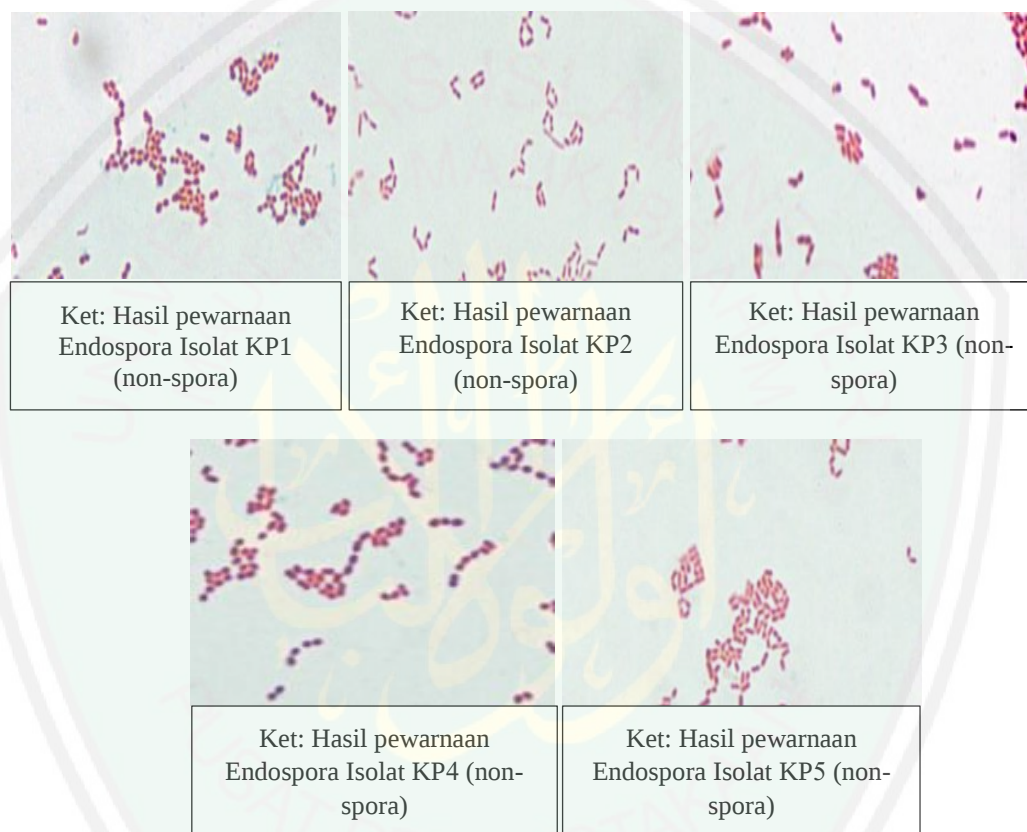
4.2.2.2 Pewarnaan Endospora

Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia. Tujuan dilakukannya pewarnaan endospora adalah membedakan endospora dengan sel vegetatif, sehingga pembedaanya tampak jelas (Itis, 2008).

Tahap pewarnaan endospora juga dilakukan pada 5 isolat meskipun sebenarnya pada pengamatan pewarnaan Gram dapat dilihat bentuk sel bakteri dari isolat yang telah diisolasi. Dari pengamatan tersebut dapat dilihat bahwa tidak ada ruang kosong dari sel bakteri yang tidak terwarnai pewarnaan Gram, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat spora pada sel bakteri dari isolat kulit pisang kepok. Menurut It is (2008), endospora tetap dapat dilihat di bawah mikroskop meskipun tanpa pewarnaan dan tampak sebagai bulatan transparan dan sangat refratik. Namun, jika pewarnaan ini dilakukan dengan sederhana maka akan sulit untuk membedakan endospora dengan badan inklusi (kedua-duanya transparan, sel vegetatif bewarna), sehingga perlu dilakukan teknik pewarnaan endospora.

Spora yang dihasilkan oleh bakteri pada pewarnaan endopora akan menyerap pewarna *malachite green*, sedangkan sel vegetatif akan bewarna merah dikarenakan pewarnaan safranin. Pada pengamatan diketahui bahwa tidak

ditemukan endospora pada sel isolat bakteri hasil isolasi dari kulit pisang kepok, karena yang terlihat hanyalah sel vegetatif yang bewarna merah karena pewarna safranin yang telah diberikan. Hasil pewarnaan endospora dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut:



Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Endospora Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Berdasarkan pewarnaan Gram serta endospora yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa kelima isolat termasuk endospora negatif. Endospora negatif dari bakteri tersebut merupakan ciri-ciri dari bakteri asam laktat, yaitu Gram positif dengan bentuk sel *basil* dan *coccus* serta endospora negatif yang terlihat dengan tidak adanya spora pada bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa jenis bakteri tersebut adalah jenis bakteri asam laktat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Rustan

(2013), yang mengatakan bahwa mikroba yang melakukan fermentasi pada produk fermentasi sayuran adalah jenis bakteri penghasil asam laktat.

Abubakr dan Adiwish (2017), juga menyatakan bahwa bakteri asam laktat adalah bakteri Gram positif, bukan pembentuk spora, katalase negatif, anaerobik yang dapat tumbuh di lingkungan oksigen dan pada peragian karbohidrat (glukosa dan laktosa) terutama membentuk asam laktat. Termasuk dalam bakteri asam laktat ini adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Bifidobacterium*.

4.2.3 Uji Biokimia dan Karakterisasi Fisiologi

Langkah selanjutnya setelah dilakukan pewarnaan Gram serta endospora, dilakukan uji biokimia dan karakterisasi fisiologi pada bakteri Gram positif. Uji biokimia dan karakterisasi fisiologi yang dilakukan meliputi uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji ketahanan suhu 15°C, 37°C dan 45°C dan uji ketahanan NaCl (garam) 4% dan 6,5%.

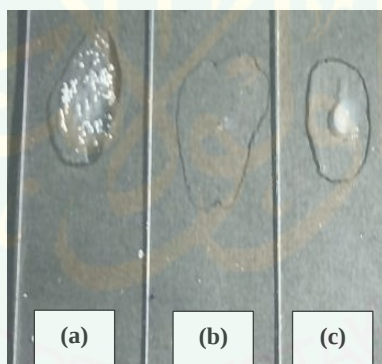
4.2.3.1 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Pada pengujian katalase dapat diketahui 5 isolat bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok mempunyai karakteristik katalase negatif dengan ditandai tidak terbentuknya gelembung ketika diberi beberapa tetes H₂SO₄. Hasil pengamatan uji katalase terdapat pada gambar 4.3. Hal ini sesuai dengan pernyataan Raharjo (2012), mengatakan bahwa enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogen peroksida (H₂O₂) yang toksik bagi sel

menjadi air dan oksigen. Reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim katalase terhadap H_2O_2 adalah:



Uji katalase ini dilakukan dengan meneteskan 1-2 tetes H_2O_2 3% pada isolat bakteri asam laktat yang telah diinkubasi selama 24 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung pada isolat yang menunjukkan terbentuknya oksigen sebagai hasil dari pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi bakteri tersebut. Hasil uji katalase dapat dilihat pada gambar 4.3 sebagai berikut:



Gambar 4.3 Hasil Uji Katalase Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*), a. *Staphylococcus aureus* (kontrol positif), b. *Lactobacillus* sp. (kontrol negatif) dan c. Isolat dari KP5 (katalase negatif)

Hasil uji katalase pada kelima isolat bakteri menunjukkan hasil negatif yang terlihat dengan tidak adanya gelembung gas yang berisi oksigen ketika isolat ditetesi dengan larutan H_2O_2 . Hal ini, sesuai dengan penelitian Stamer (1979), yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif. Menurut Yousef (2003), mengatakan bahwa telah umum diketahui bahwa

bakteri asam laktat memiliki sifat anaerob akan tetapi mampu mentoleransi adanya oksigen dan memetabolisme karbohidrat melalui jalur fermentasi.

4.2.3.2 Uji Motilitas

Berdasarkan hasil pengamatan uji motilitas semua isolat menunjukkan hasil non motil yaitu dengan ditandai tidak adanya pergerakan bakteri selama masa inkubasi 48 jam yang terlihat dengan tidak terbentuknya rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose. Menurut Sudarsono (2008), Uji postif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar (motil), sedangkan uji negatif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya berupa satu garis (non-motil). Uji motilitas dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri menggunakan ose pada medium SIM. Hasil uji motilitas dapat dilihat pada gambar 4.4 sebagai berikut:



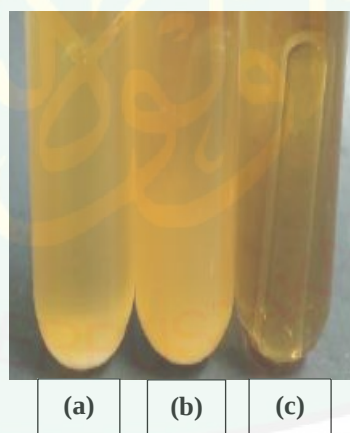
Gambar 4.4 Hasil Uji Motilitas Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*), a. media MRS Agar (kontrol negatif), b. *Lactobacillus* sp. (kontrol positif) dan Isolat KP1 (non-motil)

4.2.3.3 Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi dilakukan untuk melihat aktivitas metabolisme BAL. Menurut Carl (1971), menyatakan bahwa karakteristik dari proses ini

merupakan adanya bakteri asam laktat yang termasuk bakteri heterofermentatif dan homofermentatif. Hasil pertumbuhan bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat, asam asetat, etanol, manitol, dekstran, ester dan CO₂.

Berdasarkan hasil uji tipe fermentasi pada kelima isolat menunjukkan tidak memproduksi gas yang berarti kelima isolat merupakan bakteri asam laktat homofermentatif. Menurut Purwohadisantoso (2009), bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat, karbondioksida (CO₂) dan etanol termasuk BAL kelompok heterofermentatif sedangkan bakteri asam laktat yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dari fermentasi glukosa disebut homofermentatif. Hasil uji tipe fermentasi dapat dilihat pada gambar 4.5 sebagai berikut:



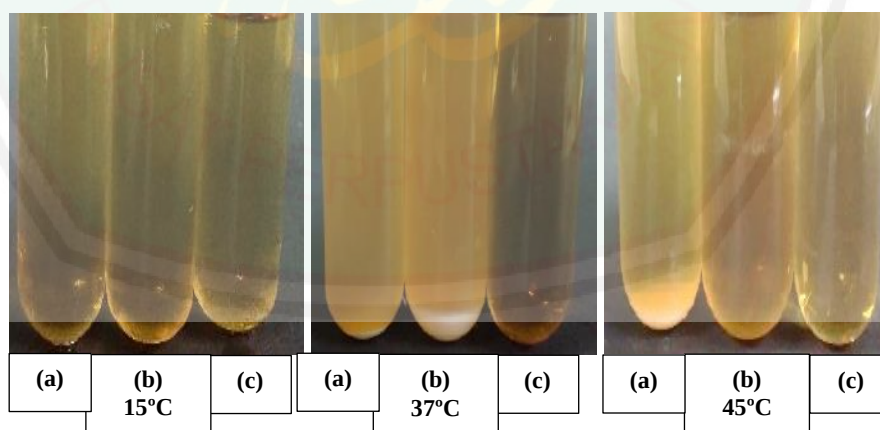
Gambar 4.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*), a. *Lactobacillus* sp. (kontrol positif), b. Isolat KP2 (homofermentatif) dan c. media MRS *Broth* (kontrol negatif)

4.2.3.4 Uji Ketahanan Suhu

Kelima isolat yang diperoleh kemudian diamati pertumbuhannya pada suhu berbeda, dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri asam laktat pada medium MRS *Broth* kemudian diinkubasi pada suhu 15°C, 37°C dan 45°C selama

48 jam. Berdasarkan strain bakteri, suhu optimum pada pertumbuhan bakteri asam laktat juga beragam.

Berdasarkan hasil pengamatan pada kelima isolat yang ditumbuhkan pada suhu yang berbeda. Hasil pengamatan pada suhu 15°C menunjukkan bahwa kelima isolat tidak dapat tumbuh pada suhu 15°C, selanjutnya pengamatan pada suhu 37°C terlihat adanya pertumbuhan bakteri asam laktat pada semua jenis isolat. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada suhu 45°C terdapat dua jenis bakteri yang berbeda yaitu isolat KP2 dan KP4 yang tidak dapat tumbuh, sedangkan isolat KP1, KP3 dan KP5 terlihat adanya pertumbuhan bakteri asam laktat akan tetapi sangat sedikit keruh pada suhu tersebut semua isolat hanya tumbuh pada suhu 37°C yang diduga sebagai bakteri mesofilik seperti *Leuconostoc* dan bakteri termofilik seperti *Lactobacillus*. Hasil uji ketahanan suhu dapat dilihat pada gambar 4.6 sebagai berikut:



Gambar 4.6 Hasil Uji Ketahanan Suhu Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*), a. *Lactobacillus* sp. (kontrol positif), b. Isolat Kulit Pisang (KP1) dan c. media MRS Broth (kontrol negatif)

Berdasarkan hal ini bakteri asam laktat secara umum dibagi menjadi dua kelompok (Suroso, 2014):

1. Bakteri Mesofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 25°C dan suhu maksimumnya 37°C-40°C. Contoh bakteri mesofilik adalah genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*.
2. Bakteri Termofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah 37°C-45°C dan suhu maksimum 45°C-52°C. Contoh bakteri genus *Streptococcus* dan homofermentatif *Lactobacillus*.

Menurut Barrow (1993), kisaran temperatur pertumbuhan untuk bakteri asam laktat sekitar 15°C-45°C, sedangkan untuk suhu optimum pertumbuhan bakteri asam laktat pada suhu 30°C-37°C. Kriteria yang juga penting diperhatikan pada saat memilih isolat bakteri asam laktat digunakan sebagai agensia probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang menjadi penghuni saluran pencernaan (Surono, 2004).

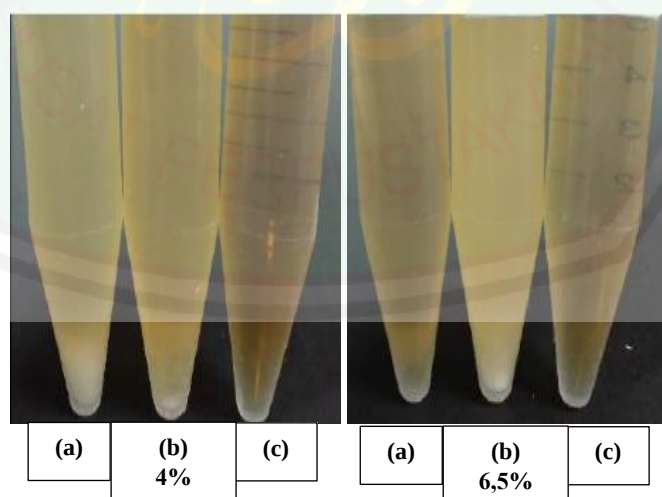
4.2.3.5 Uji Ketahanan Garam (NaCl)

Selanjutnya kelima isolat yang diperoleh dari rendaman (fermentasi) dari kulit pisang kepok dilakukan pengamatan pada konsentrasi NaCl yang berbeda dengan dilakukan menumbuhkan isolat pada medium MRS *Broth* yang telah ditambahkan konsentrasi NaCl 4% dan 6,5%.

Berdasarkan hasil pengamatan uji ketahanan terhadap konsentrasi NaCl 4% dan 6,5%. Pada kelima (KP1, KP2, KP3, KP4 dan KP5) isolat dapat tumbuh dengan kondisi konsentrasi 4%. Sedangkan dengan kondisi konsentrasi NaCl 6,5% tiga (KP1, KP3 dan KP5) isolat dapat tumbuh, akan tetapi pada kedua isolat

(KP2 dan KP5) tidak dapat tumbuh. Berdasarkan hasil diatas terdapat dua isolat yang tidak dapat tumbuh pada ketahanan NaCl yang tinggi hanya dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl rendah, sedangkan tiga isoalt toleran terhadap kondisi konsentrasi rendah maupun tinggi. Menurut Axelsson (2004), yang dapat hidup pada konsentrasi garam 6,5% apabila berbentuk batang maka termasuk ke dalam genus *Lactobacillus*.

Uji pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl yang berbeda dilakukan untuk mengetahui toleransi bakteri terhadap garam empedu yang merupakan prasyarat untuk kolonisasi dan aktivitas metabolik bakteri di usus kecil manusia. Bakteri asam laktat yang dapat bertahan pada konsentrasi garam empedu akan mencapai usus kecil dan usus besar sehingga dapat menyeimbangkan mikroflora didalam pencernaan manusia (Thakkar, 2015). Hasil uji ketahanan garam (NaCl) dapat dilihat pada gambar 4.7 sebagai berikut.



Gambar 4.7 Hasil Uji Ketahanan Garam (NaCl) Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*), a. *Lactobacillus* sp. (kontrol positif), b. Isolat Kulit Pisang (KP1) dan c. Media MRS Broth (kontrol negatif)

4.2.4 Isolat Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Isolat bakteri Gram positif berbentuk batang dan bulat dapat diperjelas berdasarkan diagram alur *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, isolat bakteri yang memiliki karakteristik Gram positif dan berbentuk batang merupakan *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, dan *Mycobacterium sp.* Sedangkan bakteri Gram positif berbentuk bulat termasuk genus *Streptococcus sp.* dan *Enterococcus sp.* Untuk menentukan genus dari masing-masing isolat bakteri yang diperoleh pada penelitian kali ini digunakan data hasil karakterisasi yang telah dilakukan yaitu data karakterisasi mikroskopik, makroskopis, biokimia dan fisiologi.

Karakterisasi tingkat genus dapat diketahui dengan melihat bentuk sel serta susunan dari isolat bakteri yang ditemukan. Dalam penelitian ini, didapatkan ketiga isolat yang telah dilakukan tahap pengujian dengan memiliki bentuk sel batang dan bulat dengan susunan berantai, merupakan jenis Gram positif, katalase negatif dan tidak memiliki spora. Sehingga diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus* (KP3 dan KP5) dan *Leuconostoc* (KP1). Holt *et al.* (1994), dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* mengatakan bahwa bakteri diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* termasuk bakteri Gram positif, tidak memiliki spora, non-motil dan anaerob pada isolasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ray (2001), bahwa *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri yaitu selnya berbentuk batang dengan ukuran dan bentuk yang sangat seragam, beberapa dapat bersifat sangat panjang dan beberapa lainnya bersifat batang bulat.

Stamer (1979), juga menyatakan bahwa *Lactobacillus* ada yang homofermentatif dan heterofermentatif. *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan, terutama pada hewan dan produk makanan sayur-sayuran serta tidak bersifat patogen. Bakteri *Lactobacillus* memiliki habitat asli membran mukosa dari hewan atau manusia, tanaman, limbah, makanan terfermentasi misalnya susu asam, adonan yang asam dan lain sebagainya. Rustan (2013), dalam penelitiannya mengatakan, bahwa *Lactobacillus* aktif saat bakteri yang telah aktif sebelumnya memproduksi asam laktat yang tinggi, seperti bakteri-bakteri dari genera *Leuconostoc* dan *Streptococcus*.

Ngatirah (2000), mengatakan bahwa beberapa strain bakteri asam laktat berpotensi sebagai probiotik karena kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen. Rustan (2013), juga mengatakan bahwa sebagian bakteri asam laktat berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, diantaranya adalah meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada usus, meningkatkan digesti laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Probiotik umumnya terdiri dari satu atau beberapa bakteri asam laktat, misalnya *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Keduanya seringkali digunakan sebagai probiotik karena merupakan mikroorganisme asli dalam ekosistem pencernaan dan telah banyak dilaporkan memiliki sifat antagonis terhadap bakteri-bakteri patogen di dalam usus.

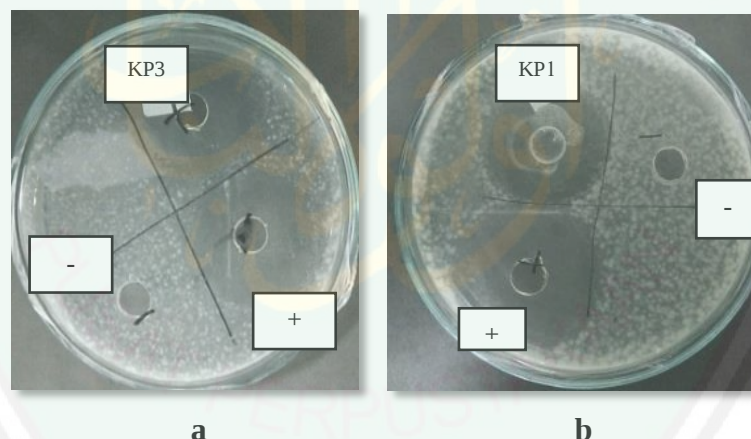
Spesies *Leuconostoc* sangat berperan dalam fermentasi malolaktat (asam malat menjadi asam laktat) yang penting dalam sifat organoleptik produk anggur.

Leuconostoc juga berperan dalam fermentasi beberapa sayuran seperti saurkraut dan acar serta asinan ketimun. Dalam fermentasi ini *L. mesenteroides* mengawali flora bakteri asam laktat. Kemampuan *L. dextranicum* dan *L. cremoris* (*citrovorum*) memfermentasi asam nitrat dalam susu dan memproduksi diasetil menyebabkan penggunaan kultur tersebut sebagai starter dalam beberapa produk fermentasi susu, penggunaan *Leuconostoc* dalam fermentasi telur, tujuan utama fermentasi adalah mengurangi kadar gula untuk menghindari proses *browning* pengeringan telur (Sudarmadji, 1989).

4.3 Aktivitas Antibakteri BAL dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Berdasarkan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi terhadap kelima isolat termasuk Gram positif yang memiliki bentuk bulat maupun batang, endospora negatif, katalase negatif, tipe fermentasi homofermentatif, non-motil, untuk uji ketahanan yang berbeda suhu pada kelima isolat tidak dapat tumbuh pada suhu 15°C, kemudian pada suhu 37° merupakan suhu optimum untuk melakukan pertumbuhan, selanjutnya pada suhu 45°C hanya tiga isolat yang dapat tumbuh pada suhu tersebut yaitu (KP1, KP3 dan KP5) melihat pada media MRS *Broth* yang terlihat sedikit keruh. Akan tetapi pada uji ketahanan NaCl 4% dan 6,5% kelima isolat dapat tumbuh pada kondisi konsentrasi rendah, akan tetapi pada isolat (KP2 dan KP4) tidak tahan terhadap konsentrasi tinggi, sehingga pada aktivitas uji antibakteri hanya dilakukan pada ketiga isolat yaitu KP1, KP3 dan KP5.

Pengujian daya hambat bakteri asam laktat dari kulit pisang kepek terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ini menggunakan metode sumuran. Menurut Alakomi (2006), aktivitas antibakteri akan lebih efektif menggunakan metode sumuran agar dari pada menggunakan kertas *disk*. Kelebihan dari metode sumuran adalah volume antibakteri yang dimasukkan dapat terukur dan akan berdifusi langsung ke dalam agar. Diameter zona hambat (bening) di sekitar sumuran yang berisi cairan isolat bakteri asam laktat diukur dan dibandingkan dengan diameter zona hambat yang berisi streptomisin (kontrol positif) dan aquades (kontrol negatif). Hasil uji antibakteri bakteri asam laktat dari kulit pisang kepek terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada gambar 4.8 sebagai berikut:



Gambar 4.8 Zona Hambat pada Uji Antibakteri menggunakan Difusi Sumuran a) Bakteri *E. coli*, (-) Kontrol Negatif dengan Aquades, (+) Kontrol Positif dengan Streptomisin dan (KP3) Isolat BAL dari Kulit Pisang ; b) Bakteri *S. aureus*, (-) Kontrol Negatif dengan Aquades, (+) Kontrol Positif dengan Streptomisin dan (KP1) Isolat BAL dari Kulit Pisang

Penggunaan kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk bukan pengaruh dari pelarut, akan tetapi murni dari senyawa aktif dalam isolat bakteri asam laktat tersebut. Hasil pengukuran

diameter zona hambat menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, hal tersebut dapat terlihat dari zona bening yang muncul disekitar sumuran. Hasil pengukuran zona hambat bakteri asam laktat dari kulit pisang terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Rerata (*mean*) dan Simpang Baku (SD) Zona Hambat BAL dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No	Sampel	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)±SD		
		KP1 (<i>Leuconostoc</i>)	KP3 (<i>Lactobacillus</i>)	KP5 (<i>Lactobacillus</i>)
1	<i>Escherichia coli</i>	19,3±1,78 (Sangat kuat)	26,0±3,42 (Sangat kuat)	15,4±2,88 (Kuat)
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	9,90±1,91 (Sedang)	13,8±5,28 (Kuat)	17,8±1,75 (Kuat)
3	Kontrol Positif (Streptomisin) <i>E. coli</i>	25,6±2,83 (Sangat kuat)	27,5±2,31 (Sangat kuat)	27,2±2,19 (Sangat kuat)
4.	Kontrol Negatif (Aquades) <i>E. coli</i>	-	-	-
5.	Kontrol Positif (Streptomisin) <i>S. aureus</i>	24,9±2,16 (Sangat kuat)	27,2±4,22 (Sangat kuat)	24,9±4,93 (Sangat kuat)
6.	Kontrol Negatif (Aquades) <i>S. aureus</i>	-	-	-

Berdasarkan data rata-rata hasil daya uji daya hambat pada tabel 4.3 dapat diketahui bahwa hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan ketiga isolat BAL kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) mampu menghambat kedua mikroba uji *E.*

coli dan *S. aureus*. Adanya zona hambat (zona bening) di sekitar sumuran menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroba uji. Zona hambat yang berada disekitar sumuran diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Parameter yang digunakan adalah zona hambat, zona hambat adalah area bening yang berada disekitar sumuran sebagai indikasi tidak adanya atau terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme.

Hasil pengukuran uji daya hambat isolat BAL dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*). Isolat pertama KP1 (*Leuconostoc*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan rata-rata diameter $19,3 \pm 1,78$ (sangat kuat), sedangkan untuk bakteri *S. aureus* dengan rata-rata diameter $9,90 \pm 1,91$ (sedang). Isolat kedua KP3 (*Lactobacillus*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan rata-rata diameter $26,0 \pm 3,42$ (sangat kuat), sedangkan untuk bakteri *S. aureus* dengan rata-rata diameter $13,8 \pm 5,28$ (kuat), isolat ketiga KP5 (*Lactobacillus*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan rata-rata diameter $15,4 \pm 2,88$ (kuat), sedangkan untuk bakteri *S. aureus* dengan rata-rata diameter $17,8 \pm 1,75$ (kuat). Zona hambat dengan diameter ukuran terbesar adalah kontrol positif (streptomisin) dikarenakan sudah melewati berbagai tahapan proses uji dan senyawa aktif pada obat tersebut sudah spesifik, sehingga didapatkan efektivitas yang optimal.

Nilai diameter zona hambat kontrol positif streptomisin pada tiap mikroba uji, terhadap bakteri *E. coli* dengan rata-rata diameter KP1 (*Leuconostoc*) $25,6 \pm 2,83$ (sangat kuat), KP3 dan KP5 (*Lactobacillus*) $27,5 \pm 2,31$ (sangat kuat) dan $27,2 \pm 2,19$ (sangat kuat), sedangkan terhadap bakteri uji *S. aureus* dengan

rata-rata diameter KP1 (*Leuconostoc*) $24,9 \pm 2,16$ (sangat kuat), KP3 dan KP5 (*Lactobacillus*) $27,2 \pm 4,22$ (sangat kuat) dan $24,9 \pm 4,93$ (sangat kuat) (Tabel 4.4). Dari hasil ini, streptomisin lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri. Hal ini, dikarenakan memang obat tersebut merupakan obat sintesis yang secara luas digunakan sebagai infeksi baik Gram negatif maupun Gram positif. Adapun kategori rerata diameter penghambatan antibakteri bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Kategori Rerata Diameter Penghambatan Zat Antibakteri

Diameter Zona Hambat	Daya Hambat Pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Sumber: Davis dan Stout (1971)

Dari ketiga isolat BAL yang digunakan terlihat bahwa daya hambat isolat KP3 (*Lactobacillus*) lebih besar dari pada daya hambat isolat KP1 (*Leuconostoc*) dan KP5 (*Lactobacillus*). Adanya perbedaan besar kecil diameter zona hambat bisa dipengaruhi oleh senyawa antimikroba dari cairan kultur isolat BAL ke media yang berisi bakteri patogen (Elfina *et. al.*, 2014). Aktivitas antibakteri hasil isolasi terhadap bakteri *E. coli* lebih besar dibandingkan dengan *S. aureus*. Zona hambat terbentuk ditunjukkan pada gambar 4.8 dan Tabel 4.4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat isolat BAL lebih tinggi terhadap bakteri *E. coli* (Gram negatif) dibandingkan dengan *S. aureus* (Gram positif), hal ini ditunjukkan oleh nilai diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* yang secara umum lebih besar daripada bakteri *S. aureus*.

Mekanisme kerja zat antibakteri terhadap bakteri target terjadi dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, merusak molekul protein, menghambat aktivitas enzim dan menghambat sintesa asam nukleat. Mekanisme penghambatan sel bakteri Gram negatif oleh asam laktat, menurut Alakomi *et al.* (2006), dengan menyebabkan *sublethal injury* pada sel bakteri, lapisan lipopolisakarida pada permukaan membran sel juga dapat mengalami kerusakan (*injury*), sehingga permeabilitas membran luar sel menjadi terganggu. Dengan rusaknya membran luar sel, maka kondisi asam pada lingkungan sel dapat masuk ke dalam sel sehingga merusak aktivitas intraseluler yang pada akhirnya dapat mematikan sel. Menurut Lunggani (2007), asam yang terlalu tinggi akan mengakibatkan lipopolisakarida lisis dan memacu terjadinya lubang pada dinding selnya. Antimikroba dapat masuk ke dalam sel dan kontak dengan membran sitoplasma sehingga mempengaruhi sintesis energi dan permeabilitas dinding sel yang akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri.

Menurut Dwiyanti (2016), adanya potensi efektivitas dalam menghambat bakteri patogen yang dimiliki oleh *Lactobacillus* dikarenakan dalam bakteri asam laktat tersebut memiliki senyawa-senyawa protein dan antibakteri seperti asam laktat dan asam asetat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Senyawa yang bersifat sebagai antibakteri hasil metabolisme bakteri asam laktat. *Lactobacillus* telah terbukti menunjukkan aktivitas membunuh bakteri target dalam uji difusi dengan baik, dengan penghambatan pertumbuhan zona diameter bervariasi ≥ 10 mm - ≥ 18 mm dan 10-20 mm (kuat). Berdasarkan hasil penelitian Yuliana (2009), dijelaskan bahwa *Lactobacillus* sp. dari hasil isolasi uji antibakterinya

terhadap *E. coli* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 1,65–2,2 cm, dari penelitian tersebut menambah daya potensi *Lactobacillus* sp. sebagai antibakteri terhadap *E. coli*.

Penghambatan dapat terjadi karena senyawa antimikroba yang dihasilkan dapat menembus membran terluar dari bakteri Gram negatif (*E. coli*). Menurut Alakomi (2006), membran terluar dari bakteri Gram negatif bertindak sebagai pelindung dengan adanya lipopolisakarida yang menyebabkan resistensi sel dari berbagai macam zat, namun membran terluar dari bakteri Gram negatif ini masih mungkin dapat ditembus oleh senyawa lain yang disebut permeabilizer yang dapat menghancurkan lapisan lipopolisakarida dan meningkatkan permeabilitas membran terluar bakteri Gram negatif. Salah satu zat yang dapat menembus periplasma membran terluar dari bakteri Gram negatif adalah asam laktat.

Menurut Alakomi *et, al.* (2006), asam laktat yang diproduksi kultur starter BAL dapat berfungsi sebagai antimikroba alami. Asam laktat mampu menghambat pertumbuhan berbagai tipe bakteri pembusuk dan patogen termasuk spesies Gram negatif yakni family *Entobacteriaceae* dan *Pseudonadaceae*, sedangkan Gram positif yakni *S. aureus*, *B. Cereus* dan *mycobacterium*. Mekanisme masuknya antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif berbeda, menurut Nychas (2000), menyatakan bahwa pada bakteri Gram positif, antibakteri dapat langsung masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein, selanjutnya dapat menyebabkan bakteri tersebut lisis. Sedangkan pada bakteri Gram negatif antibakteri masuk melalui

porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein.

Allah SWT dengan segala ciptaan-Nya yang ada di bumi termasuk segala jenis tumbuhan yang baik dan memiliki manfaat dan seharusnya dapat dimanfaatkan bagi kemaslahatan manusia dan makhluk hidup yang ada di bumi, sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Quran surat al-Hijr (15): 20:

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَّسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

“Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya” (Q.S. Al-Hijr 15:20).

Lafadz معاش artinya keperluan-keperluan. Keperluan yang dimaksudkan adalah kekayaan alam yang ada di bumi merupakan kekuasaan Allah SWT menciptakannya digunakan untuk kemaslahatan hidup manusia. Karena sesungguhnya yang berada di alam baik yang hidup maupun mati, kecil maupun besar memiliki manfaat masing-masing dan telah dijelaskan bahwa di bumi ini Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang tidak terukur unsur-unsur yang tidak mengandung faedah. Allah SWT menjadikan nikmat serta tanda kekuasaan-Nya bagi kaum yang mempunyai keinginan dan memikirkan apa yang ada terkandung dalam tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT.

Daya antibakteri yang dihasilkan dari isolasi kulit buah pisang kepok lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif yaitu bakteri *E. coli* daripada bakteri Gram

positif yaitu *S. aureus*. Perbedaan hasil nilai rata-rata diameter zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ini dapat disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri yang dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Berdasarkan hasil diatas dapat dikatakan antimikroba dari BAL kulit pisang kepok berpotensi sebagai antimikroba dan berspektrum luas, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme prokariotik seperti bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif.

Hal ini dapat dilihat adanya zona hambat yang terbentuk akibat aktivitas antimikroba. Terbentuknya zona hambat pada masing-masing jenis isolat BAL diduga disebabkan adanya senyawa aktif dari metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Menurut Fitriahani (2017), penelitian ekstrak kulit pisang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dikarenakan memiliki kandungan senyawa aktif ini telah dibuktikan pada uji fitokimia senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, polifenol, tanin dan alkaloid.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Berdasarkan karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia serta karakterisasi fisiologi, terdapat 3 isolat BAL dalam kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*). Uji pewarnaan Gram yang dilakukan menunjukkan jenis isolat termasuk Gram positif dan endospora negatif serta uji katalase negatif dan didapatkan 2 jenis bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* yaitu isolat KP3 dan KP5 yang telah dikarakterisasi dan isolat KP1 yang telah terkarakterisasi sebagai *Leuconostoc*.
2. Hasil fermentasi bakteri asam laktat dari kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat hasil isolat BAL dari kulit pisang kepok KP1 (*Leuconostoc*), KP3 dan KP5 (*Lactobacillus*) terhadap bakteri *E. coli* dengan nilai zona hambat sebesar $19,3 \pm 1,78$ mm, $26,0 \pm 3,42$ mm dan $15,4 \pm 2,88$ mm, sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* dengan nilai zona hambat sebesar $9,90 \pm 1,91$ mm, $13,8 \pm 5,28$ mm dan $17,8 \pm 1,75$ mm, hasil uji diatas dapat diketahui bahwa isolat KP3 (*Lactobacillus*) lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan dengan isolat KP1 (*Leuconostoc*) dan KP5 (*Lactobacillus*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu:

1. Penelitian ini perlu dikembangkan lagi dengan mengidentifikasi isolat BAL yang diperoleh sampai ke tingkat spesies.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metabolit sekunder yang dimiliki isolat BAL dari fermentasi (rendaman) kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakr, M.A.S, dan Al-Adiwish, W.M. 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Different Fruits with Proteolytic Activity. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2 (2), 58-64.
- Ajizah, A. 2004. Sensivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L). *Bioscientiae. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung Mangkurat*. Vol. 1, No. 1: 31-38.
- Alakomi, H.L., A. Paanaen, M.L., Suihko. I.M Helander and M. Saarela. 2006. Weaking Effect of Cel Permeabilizaer on Gram Negative Bacteria Causing Biodeterioration. *J. Appl. Environ Microbiol*. Vol. 72, No. 2.
- Alfiah, Dewi Tuti. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pelepah Tanaman Pisang Ambon (Musa Parasidiaca) Terhadap Bakteri Escherichia coli ATCC. 11229 dan Staphylococcus aureus ATCC 6538 Secara In Vitro*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2008. *Tafsir al-Qur'an Al-Aisar Jilid 4*, Alih Bahasa: Suratman dan Fityan Amali. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Ashari, S. 2006. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Aween, M.M., Z. Hassan, B.J. Muhialdin, H.M. Noor, Y.A. Eljamel, M.N. Lani. 2012. Antibacteria Activity of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysia against Selected Multiple Antibiotic Resistant (MAR) Gram-Positive Bacteria. *Journal of Food Science*. 1: 364-371.
- Axelsson, L. 2004. *Lactic Bacteria Classification and Physiology*. In Salminen, S. Wright, A.V., Ouwehand, A., Editors. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd Edition. Revised and Expanded. Marcel Dekker. Inc., New York.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Data Produksi Holtikultura Basis Data Pertanian. http://www.bps.go.id/tabsub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar&id_subye=55¬ab=15 [Diakses 14 April 2014].
- Bamforth, C.W. 2005. *Food, Fermentation and Micro-orgaisms*. Iowa: University Of California. Blackwell Science Ltd. Hlm. 31-33.
- Barrow, G.I. and R.K. Weldham. 1993. *Manual for The Identification of Medical Bacteria* (Eds. By Cowan and Steel's). Cambridge: Cambridge University Press.

- Brizuela, Maria, A. Paulina S. dan Yovanka P. 2001. Studies on Probiotics Properties of Two *Lactobacillus* Strains. *Brazilian Archivers of Biology and Technology*. Vol. 44: 95-99.
- Brooks, G. F., J.S. Butel dan S.A Morse. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, melnick dan Adelberg*. Ahli bahasa: Huriawati Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Carl S.P. 1971. *Microbiologi and Food Fermentation*. The AVI Publishing Company Inc. Connecticut.
- Davis dan Stoud. 1971. Disc Plate Method of Microbiologi Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol. 22, No. 4.
- Desniar. 2012. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat asal Bekasam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. Xiv. No. 2 : 124-133.
- Dwidjoseputro D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Dwiyanti. Ratih. 2016. Mutu Bakteriologis Saus Tomat Pentol di Banjarbaru. *Medical Laboratory Technology Journal*. Vol. 2, No.1.
- Elfina D., Atria M., Rodensia, M.R. 2014. Isolasi dan Karakteristik Fungi Endofit dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pekanbaru: Jurusan Biologi FMIPA-UR.
- Ermawati, Aswita, Betty Sri Laksmi Suryaatmadja Jenie, Lilis Nuraida dan Dahrul Syah. 2016. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi sebagai Probiotik. *Jurnal Agritech Fakultas Teknologi Pertanian-UGM* 35 (2): 146-155.
- Eveline, Adolf, J. N., Parhusip. dan Rico, A. 2011. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Pisang (*Musa ABB cv Kepok*) Sebagai Senyawa Antibakteri. *Nasional PATPI*. ISBN 978-602-9802-1-1.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fatemeh SR., Saifullah R., Abbas FM., Azhar ME. 2012. Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Activity Of Banan Pulp and Peel Flours: Influence Of Variety and Stage Of Ripeness. *International Food Research Journal*. 19 (3): 1041-1046.
- Fetlinski, A. Dan L. Stepaniak. 1994. *Biolacta-Texel sarl*. Polandia: Warszawska Olsztin.

- Fitriahani, Febby. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Limbah Kulit Pisang (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* cv Candi) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. SKRIPSI. MALANG: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in Man and Animals. *Journal Application Bacteriol.* Vol. 66. No. 1: 365:378.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. and Lilburn, T. G. 2004. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd Edition). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Guessas, Bettache dan Kihal, Mebrouk. 2004. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Arid Zone Raw Goats' Milk. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 3, No. 6.
- Hapsari, L. dan Lestari, A. Dewi. 2016. Fruit Characteristic And Nutrient Values Of Four Indonesian Banana Cultivars (*Musa* spp.) at Different Genomic Groups. *Journal Of Agricultural Science*. Vol. 38 (3): 303-311.
- Haryanto, R. 2005. *Antara Antibiotik, Probiotik dan Prebiotik*. <http://indonesianherbal.blogspot.com.html>. Diakses 09 April 2014.
- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa parasidiaca* var. *sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk*. Surabaya: Universitas Erlangga.
- Hidayat, Nur. Masdiana, C. Padaga dan Sri Suhartini. 1995. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Holdeman, L.U., dan Gato, E.P. 1997 *Anaerob Laboratory Manual*. Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Holt, J.G., Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. 1994. *Begey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Lippincott William and Wilkins.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme*. Jilid 2. Bandung: CV. YramaWidya.

- Ismail, S. Yulia. 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioluser*. Vol. 1 (2): 45-53.
- Jawetz, E., Adelberg, E.A., dan Melnick, J. 2011. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Enugroho dan Maulana Edisi ke-20. Jakarta: EGC.
- Katsir, Ibnu. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Abdul Ghofur E. M. Jakarta: Pustaka Imam As-Syafi'i.
- Kemenkes. 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 / Menkes / Per / Xii / 2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kunkel, D. 2004. Dennis Kunkel Microscopy, Inc. Diunduh tahun 2016, dari *Science Stock Photography*: <http://www.denniskunkel.com/index.php>.
- Kusmiyati, N.W.S dan Agustin. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Pophyridium cruentum*. *Biodeversitas* 8 (1): 48-53.
- Kusumawati, Netty. 2003. *Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus Sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Mempertahankan Keseimbangan Mikroflora Fese dan Mereduksi Kolestrol serum Darah Tikus*. TESIS. Bogor: Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Lunggani, A.T. 2007. Kemampuan Bakteri Asam Laktat dalam Menghambat Pertumbuhan dan Produksi aflatoksin B₂ *Aspergillus flavus*. *BIOMA*. 9 (2): 45-51.
- Mandzur, Asy-Syekh Abil Fadl Jamaluddin Muhammad bin Mukrom. 1993. *Lisanul 'Arab*. Bereut Lebanon: Darul Ma'arif.
- Munadjim, Drs. 1988. *Teknologi Pengolahan Pisang*. Jakarta: Penerbit PT. Gramedia.
- Musalam, Y. 2001. *Pemanfaatan Saponin Biji Teh Pembasmi Hama Udang*. Bandung: Pusat Penelitian Perkebunan Gembung.
- Ngajow, M., Abdjulu J. Vanda S.K. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro.

- Ngatirah, Eni Harmayani, Endang S. Rahayu dan Tyas Utami. 2000. *Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Agensia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol*. Seminar Nasional Industri Pangan.
- Ningsih, A.P., Nurmiati., Agustien, A., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa parasidiaca* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2: 207-213.
- Nurhayati, Betty Sri Laksmi Jenie, Harsi D. Kusumaningrum dan Sri Widowati. 2011. Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa parasidiaca formatypica*). *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 12, No. 2: 2010-225.
- Nurhayati. 2000. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbu Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Biologi*. Vol. 6. No. 1: 34-44.
- Nychas, G.J.E. and C.C. Tassou. 2000. *Traditional Preservatives-oil and Spices*. *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press.
- Okoli, R.I., A.A. Turay., J.K Mensah and A.O Aigbe. 2009. Phytochemical and Antimicrobial Properties Of Four Herb From Edo State, Nigeria. *Report and Opinion*. 1 (5): 67-73. ISSN: 1553-9873.
- Oxoid. 2004. *Microbact Identification Kits*. Jakarta: IKAPI
- Pelczar, M.J and E.C.S. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid I. Jakarta: UI-Press.
- Plessis H.W., L.M.T Dicks, Pretorius IS, Lambrechts M.G and Toit M.D. 2004. Identification of lactic acid bacteria isolated from South African Brandy Base Wines. *Internasional Journal Food Microbiology*. Vol. 91: 19-29.
- Prabawati, S., Suyanti dan Setyabudi, D.A. 2008. *Teknologi Pascapanen dan Pengolahan Buah Pisang*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Dalam Seminar Badan Litbang Pertanian. Bogor: Departemen Pertanian.
- Purwohadisasantoso. 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Kubis yang Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri Patogen (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* dan *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 2. No. 1.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT: Bumi Aksara.

- Rachmawati, I, Suranto, dan Ratna, S. 2005. Uji Antibakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi terhadap Bakteri Patogen. *Bioteknologi* (2): 43-48. ISSN: 0216-6887.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Raharjo, T.J. 2012. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Romadhon, Subagiyo dan Sebastian Margino. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*. Vol. 3. No. 1.
- Ross, R.P., Morgan S., Hiil, C. 2002. Preservation and Fermentation: Past, Present, and future. *Int J. Food Microbial*. Vol. 79: 3-16.
- Rustan, Ida Reskia. 2013. *Studi Isolasi dan Identifikasi bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Cabai Rawit (Capsium frutesces L.)*. SKRIPSI. Makassar. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.
- Salau, B. A., Anjani, E.O., Akinlolu, A.A., Ekor, M.N., dan Soladoye, M.O. 2010. Methanolic Extract of *Musa sapientum* Sucker Moderates Fasting Blood Glucose and Body Weight of Alloxan Induced Diabetic Rats. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* Vol. 1 (1). Hal: 30-35.
- Susilowati, Santi. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Air Cucian Beras. SKRIPSI. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Saraswati, F.N. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa balbasiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus pidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Sari, R.A., Risa, N., Puji, A. 2012. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Genus *Leuconostoc* dari Pekasam Ale-Ale Hasil Formulasi Skala Laboratorium. *JKK*. 1: 14-20.
- Sari, Yuni Nurisva M., Sumaryati dan Jamsari. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Antimikroba dari Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). *Jurnal Kimia Universitas Andalas*. Vol. 2. No. 2.
- Satuhu, S., dan Supriyadi, A. 1992. *Pisang: Budidaya Pengolahan dan Prospek Pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Savadogo, A.C.A.T. Quattara, I.H.N. Bassole and A.S Traore. 2004. Antimicrobial Activities Of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated From Burkina Baso Fermented Milk. *Pakistan Journal Of Nutrition*. 3 (3): 174-179.
- Savitri, Evika Sandi. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN-Malang Press.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol. 13. Jakarta: Lentera Hati.
- Sneath P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe, dan J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. Vol. 2 baltimore: Williams and Wilkins.
- Someya, S., Y., Yoshiki., dan K., Okubo. 2002. Antioxidant Compunds from Bananas (*Musa cavendish*). *Food Chemistry*. 79 (3), 351-354.
- Sri Atun, Retno Arianingrum, Sri Handayani, *et al.* 2007. Identification and Antioxidant Activity Test Of Some Compound From Methanol Extract Peel Of Banan (*Musa parasidiaca* Linn). *Indo J. Chem.*, 7 (1), 83-87.
- Stamer, J.R. 1979. The Lactic Acid Bacteria: Microbe of Divrsity. *Journal of Food Technology*. 33 (1): 60-65.
- Standar Nasional Indonesia. SNI 01-4481-1998. Pisang Kepok Kuning (*Musa balbisiana* L.). *Badan Standarisasi Nasional – BSN*.
- Sudarmadji, S. 1989. *Analisa Bahan Makanan Pertanian*. Yogyakarta: Liberti.
- Suriawiria, U. 1996. *Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Air Buangan Secara Biologis*. Bandung: Penerbit Alumni.
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). *TRICK*. Jakarta: p 31-32.
- Suryani, Y., Astuti., Bernandeta, O., Siti, U. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolestrol Reduktase. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*.
- Thakkar, Pooja., H.A. Modi dan J.B., Prajapati. 2015. Isolation, Characterization and Safety Assasement of Lactic Acid Bacteria Isolates from Fermented Food Products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. Vol. 4. No. 4.

- Timotus, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Volk, W.A., dan Wheeler. M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan dari Basic Biology oleh Adisoemarto. Jakarta: Erlangga.
- Warefmo, A. 2011. Haemostatic Effect Of The Stem Juice Of *Musa parasidiaca* L. (*Musaceae*) in Guinea Pigs. *Advances In Biological Research*. Vol. 5 (4): 190-192. ISSN 1992-0067.
- Widyastuti dan Paimin. 1993. Karakter Bakteri Asam Laktat *Entrococcus* sp. Yang diisolasi dari Saluran Pencernaan Ternak. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. No. 4 (2): 50-53.
- Wijaya, A. R. 2010. *Getah Pisang Sebagai Obat Alternatif Tradisional Penyembuh Luka Luar Menjadi Peluang Sebagai Produk Industri* Cit. Ningsih, A. P., nurmiati., Agustien, A., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang kepok Kuning (*Musa parasidiaca* Linn) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Uniersitas Andalas*. Vol. 2, Hal. 207-213.
- Yolanda, Benedicta *et. al.* 2017. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Kimchi dan Kemampuannya Menghasilkan Senyawa Antibakteri. *Scripta Biologica*. Vol. 4, No. 3. Hal 165 – 169.
- Yousef, A. E. dan C. Clastrom. 2003. *Food Microbiology (A Laboratory Manual)*. Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, Inc. Ohio State University. USA. 223-224.
- Yuliana, Neti. 2009. Viabilitas Inokulum Bacteria Asam Laktat (BAL) yang dikeringkan secara Kemoreksi dengan Kalsium Oksida dan Aplikasinya pada Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Vol. 14. No. 1.
- Yuwono, S dan Susanto, Tri. 1998. *Pengujian Fisik Pangan*. Universitas Brawijaya. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan Karakterisasi Isolat BAL dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Pengamatan	Isolat				
	KP1	KP2	KP3	KP4	KP5
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+
Bentuk Sel	bulat	batang	Batang	bulat	Batang
Endospora	-	-	-	-	-
Uji Katalase	-	-	-	-	-
Uji Motilitas	-	-	-	-	-
Uji Tipe Fermentasi	HM	HM	HM	HM	HM
Uji Ketahanan Suhu					
15°C	-	-	-	-	-
37°C	+	+	+	+	+
45°C	+	-	+	-	+
Uji Ketahanan NaCl (%)					
4%	+	+	+	+	+
6,5%	+	-	+	-	+

Ket: Reaksi positif (+), Reaksi negatif (-), Homofermentatif (HM)

Lampiran 2. Komposisi media yang digunakan dalam penelitian (Sumber Oxiid, 2004)

1. Medium de Mann Rogosa Sharpe Agar (MRS Agar)

• <i>Peptone</i>	10 gram
• <i>Lab-Lemco 'powder</i>	8 gram
• <i>Yeast extract</i>	4 gram
• <i>Glucose</i>	20 gram
• <i>Sorbiton Mono-oleate</i>	1 mL
• <i>Dipotassium hydrogen phosphate</i>	2 gram
• <i>Sodium acetate 3H₂O</i>	5 gram
• <i>Triammonium citrate</i>	2 gram
• <i>Magnesium Sulphate 7H₂O</i>	0,2 gram
• <i>ManganeseSulphate 4H₂O</i>	0,05 gram
• <i>Agar</i>	10 gram

2. Medium de Mann Rogosa Sharpe Broth (MRS Broth)

• <i>Peptone</i>	10 gram
• <i>Lab-Lemco 'powder</i>	8 gram
• <i>Yeast extract</i>	4 gram
• <i>Glucose</i>	20 gram
• <i>Sorbiton Mono-oleate</i>	1 mL
• <i>Dipotassium hydrogen phosphate</i>	2 gram
• <i>Sodium acetate 3H₂O</i>	5 gram
• <i>Triammonium citrate</i>	2 gram
• <i>Magnesium Sulphate 7H₂O</i>	0,2 gram
• <i>ManganeseSulphate 4H₂O</i>	0,05 gram

3. Medium Nutrient Agar (NA)

• <i>Beef extract</i>	3 gram
• <i>Bacto pepton</i>	5 gram
• <i>Agar</i>	15 gram
• <i>Aquadest</i>	1000 mL

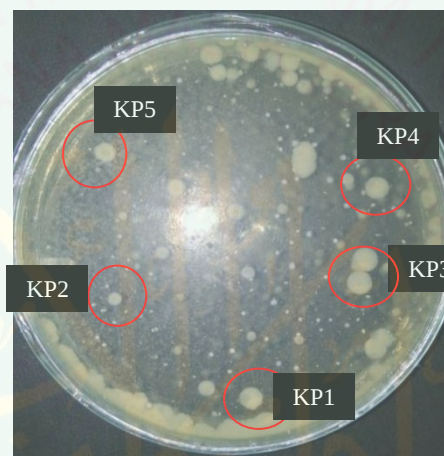
4. Medium Nutrient Borth (NB)

• <i>Beef extract</i>	3 gram
• <i>Bacto pepton</i>	5 gram
• <i>Agar</i>	15 gram
• <i>Aquadest</i>	1000 mL

5. Medium Sulphide Indole and Motility (SIM)

- Peptone from casein 20 gram
- Peptone from meat 6,6 gram
- Amonium iron citrate 0,2 gram
- Sodium thiosulfate 0,2 gram
- Agar-agar 3,0 gram

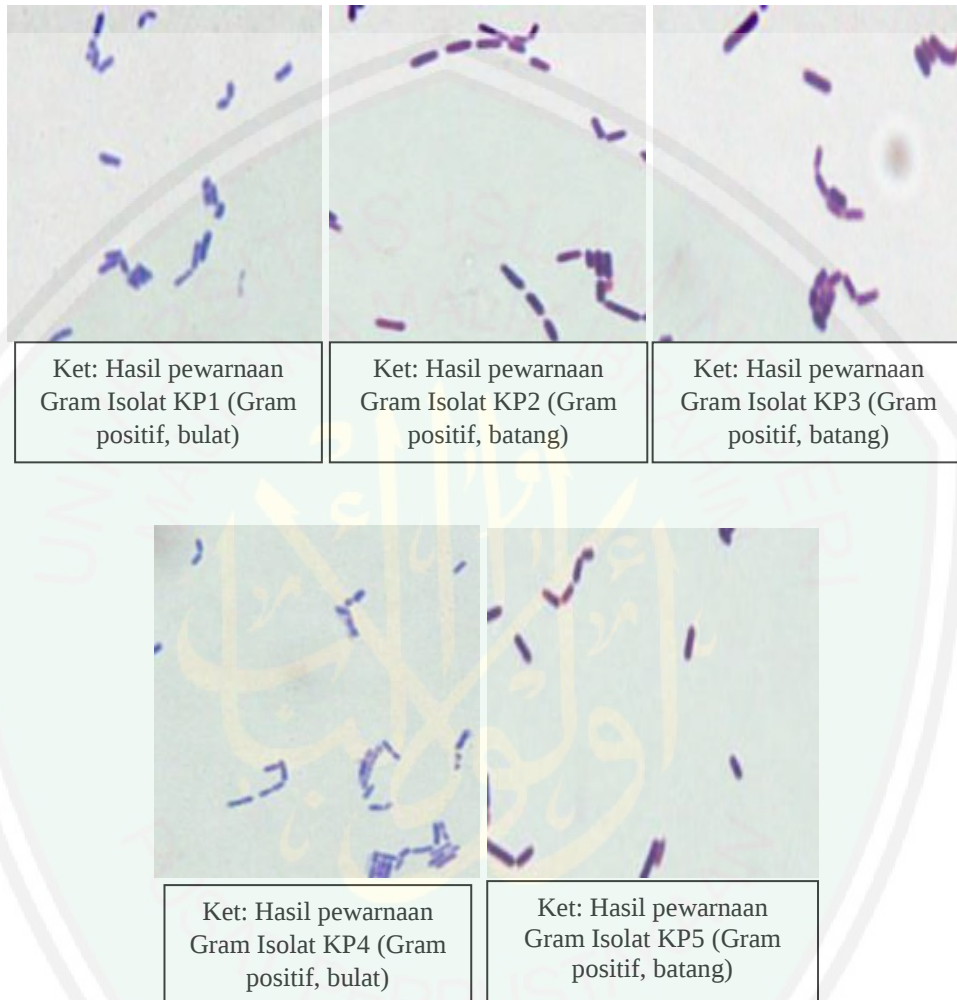
Lampiran 3. Gambar Hasil Isolat dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



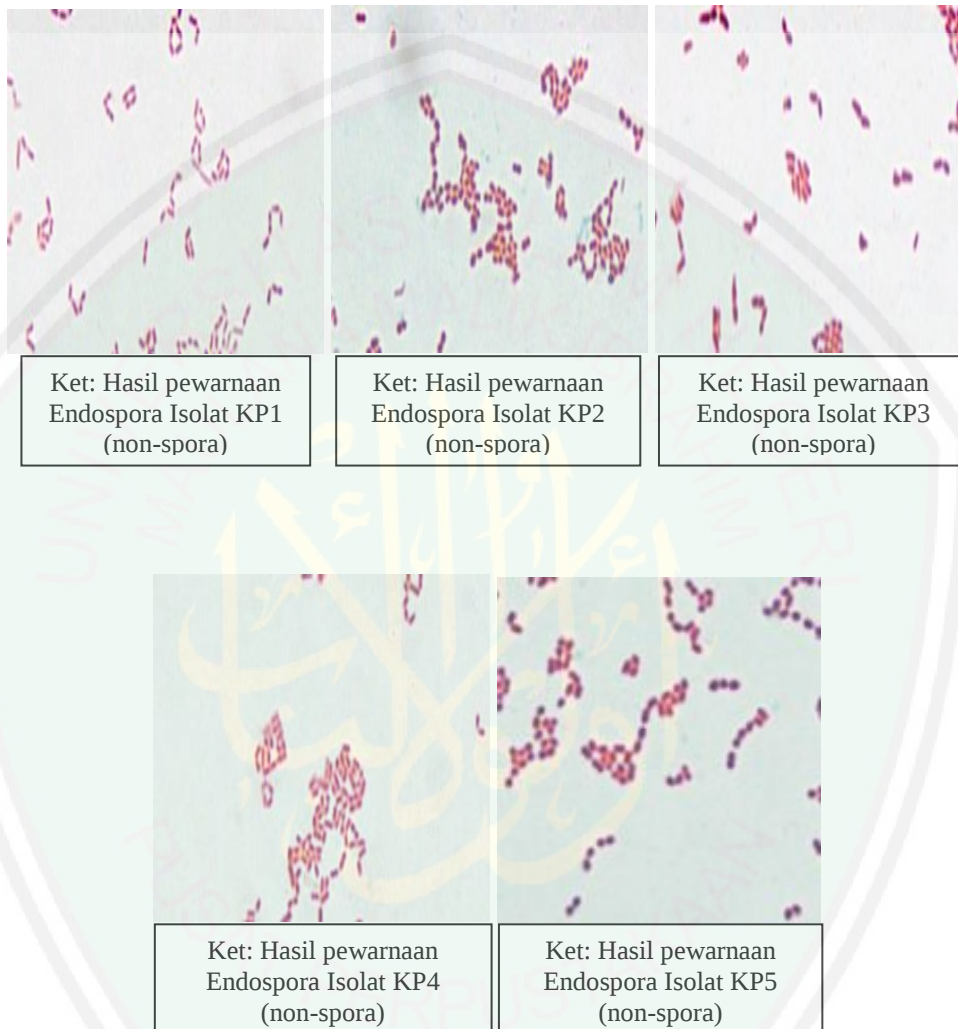
Keterangan:

- KP1: Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) 1
 KP2: Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) 2
 KP3: Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) 3
 KP4: Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) 4
 KP5: Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) 5

Lampiran 4 Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Lampiran 5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Lampiran 6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

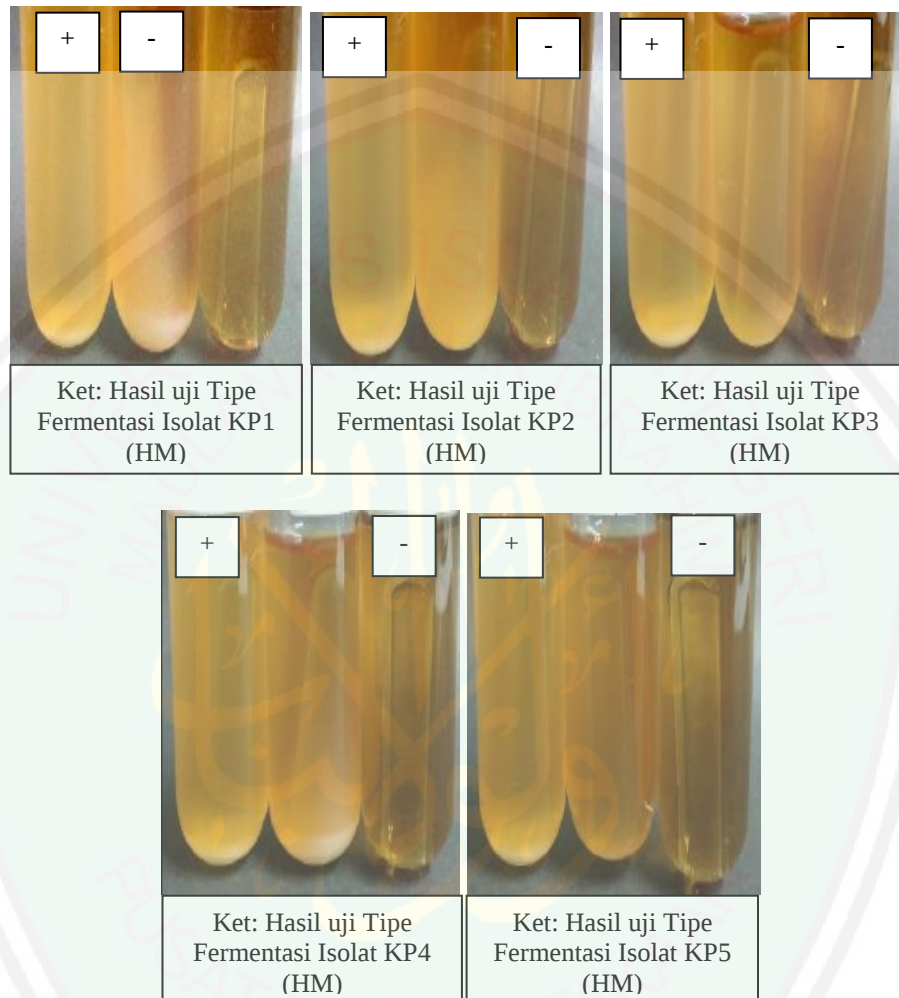


Keterangan:

(+): *Staphylococcus aureus*

(-): *Lactobacillus* sp.

Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



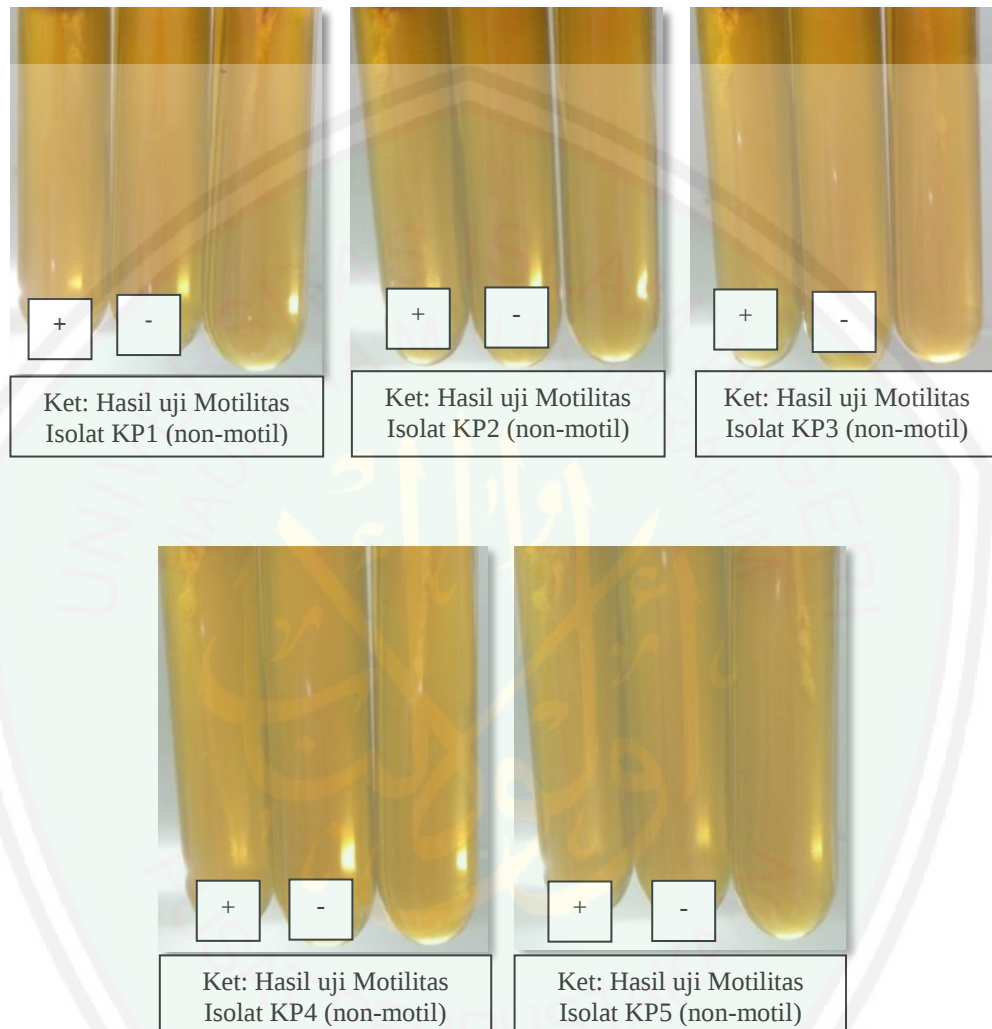
Keterangan:

(+): *Lactobacillus* sp.

(-): Media MRSB tanpa pemberian inokulasi kultur isolat

HM: Homofermentatif

Lampiran 8. Gambar Hasil Uji Motilitas Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

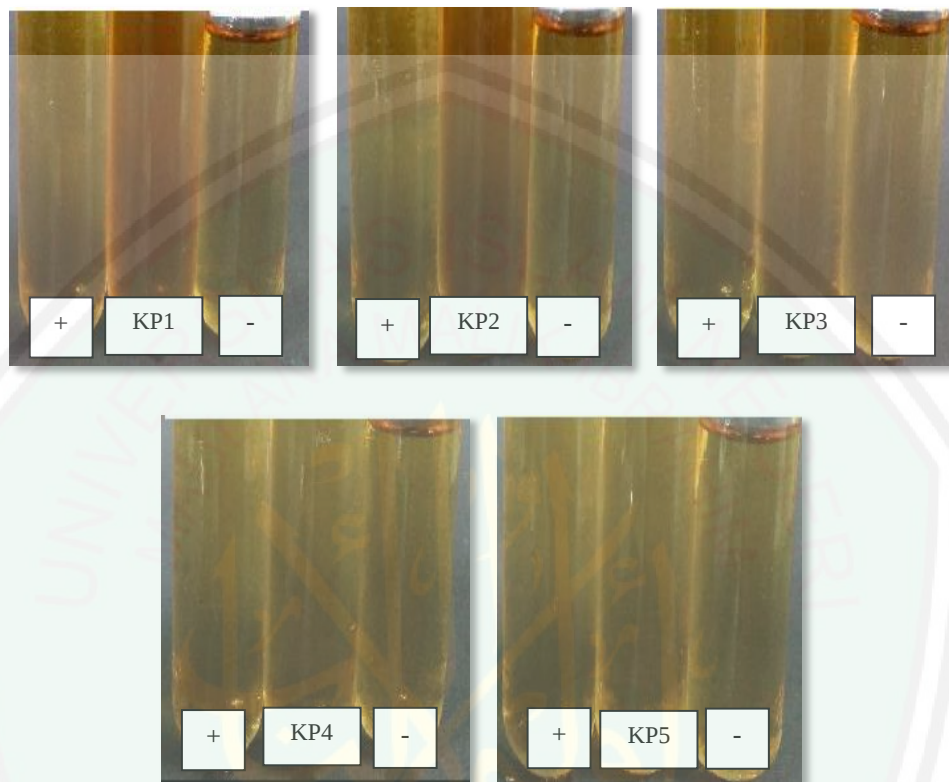


Keterangan:

(+): *Lactobacillus* sp.

(-): Media MRSB tanpa pemberian inokulasi kultur isolat

Lampiran 9. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 15°C Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Keterangan:

K (+): *Lactobacillus* sp. (Tidak tumbuh, Media bening)

K (-): Media MRS Broth

KP1: Tidak tumbuh

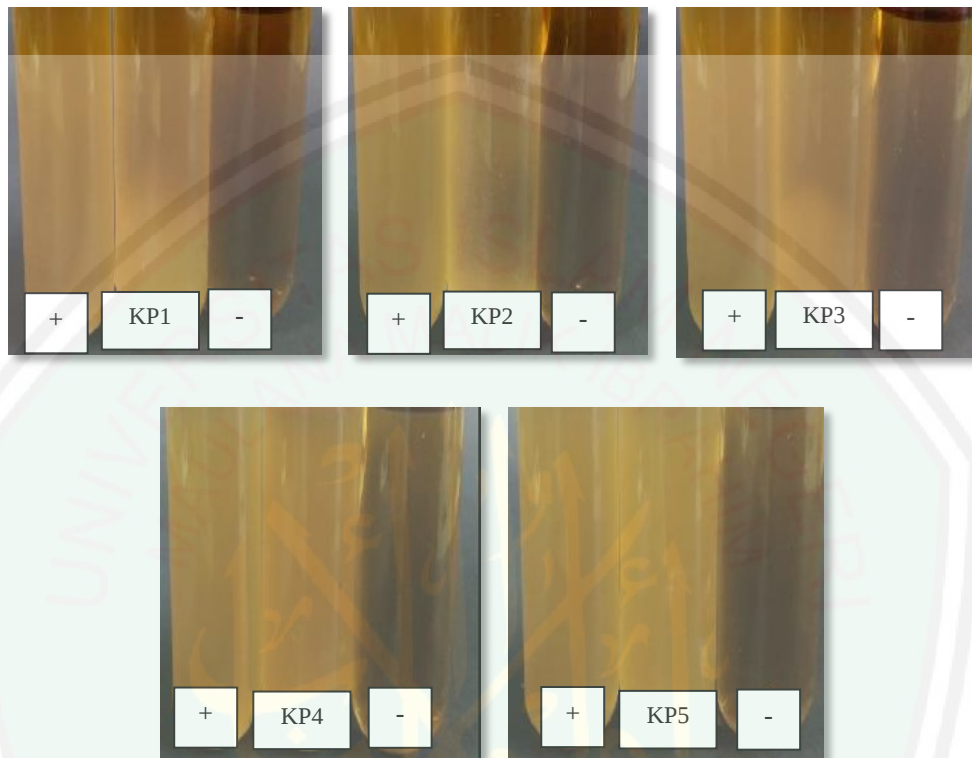
KP2: Tidak tumbuh

KP3: Tidak tumbuh

KP4: Tidak tumbuh

KP5: Tidak tumbuh

Lampiran 10. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 37°C Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Keterangan:

K (+): *Lactobacillus* sp. (Tumbuh, Media berubah menjadi keruh)

K (-): Media MRS Broth

KP1: Tumbuh

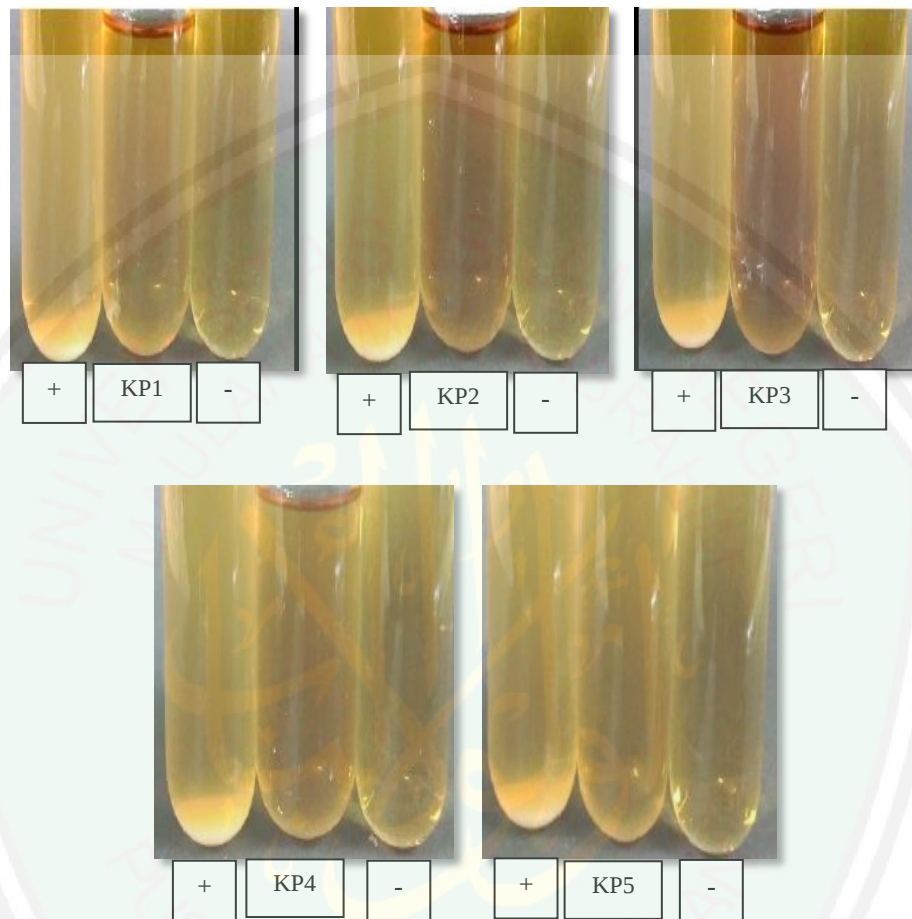
KP2: Tumbuh

KP3: Tumbuh

KP4: Tumbuh

KP5: Tumbuh

Lampiran 11. Gambar Hasil Uji Ketahanan Suhu 45°C Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Keterangan:

K (+): *Lactobacillus* sp. (Tumbuh, Media berubah menjadi keruh)

K (-): Media MRS Broth

KP1: Tumbuh sedikit keruh

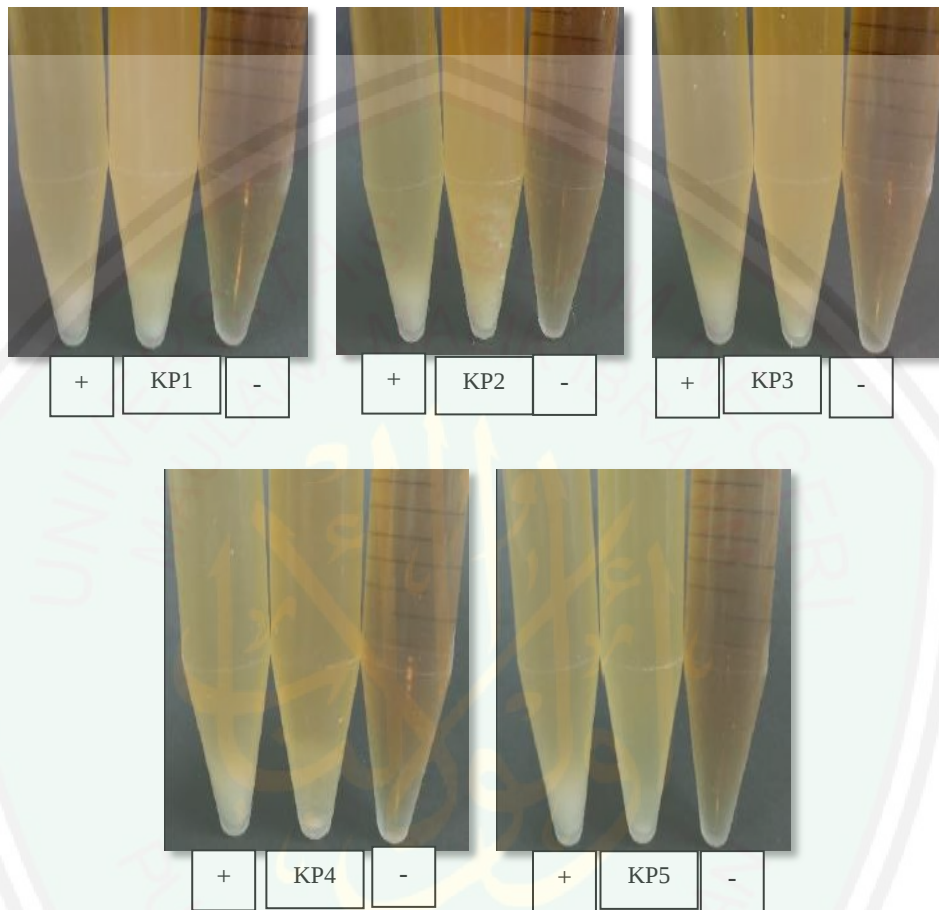
KP2: Tidak tumbuh

KP3: Tumbuh sedikit keruh

KP4: Tidak tumbuh

KP5: Tumbuh sedikit keruh

Lampiran 12. Gambar Hasil Uji Toleransi NaCl 4% Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Keterangan:

K (+): *Lactobacillus* sp. (Tumbuh, Media berubah menjadi keruh)

K (-): Media MRS Broth

KP1: Tumbuh

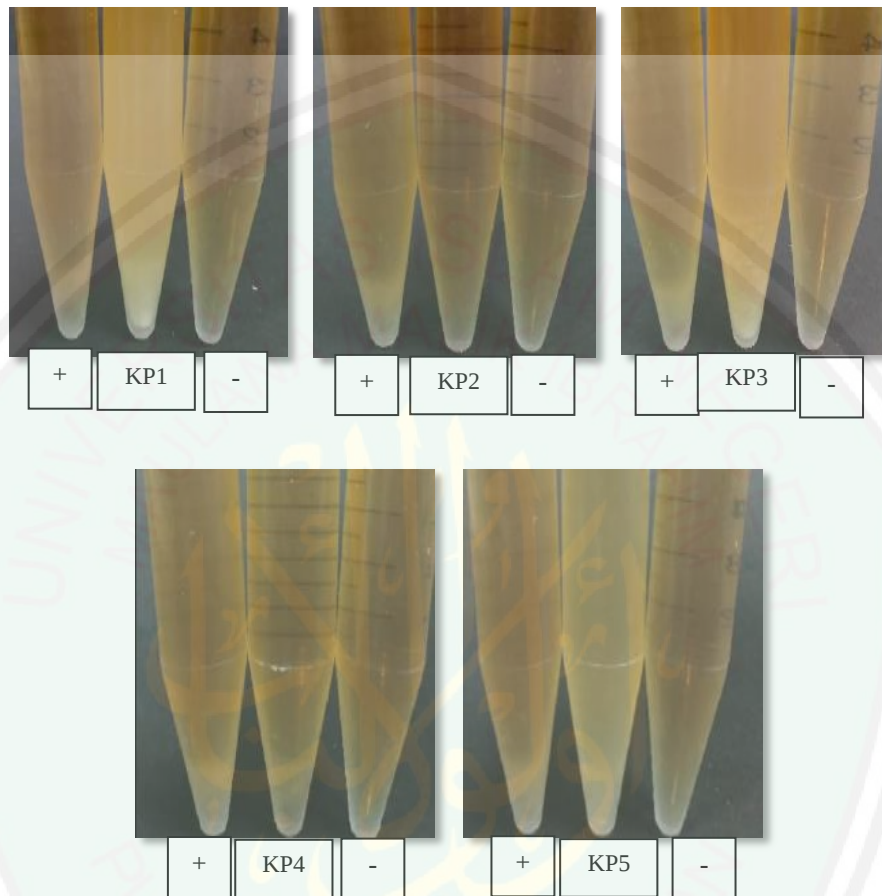
KP2: Tumbuh

KP3: Tumbuh

KP4: Tumbuh

KP5: Tumbuh

Lampiran 13. Gambar Hasil Uji Toleransi NaCl 6,5% Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)



Keterangan:

K (+): *Lactobacillus* sp. (Tumbuh, Media berubah menjadi keruh)

K (-): Media MRSB

KP1: Tumbuh

KP2: Tidak tumbuh

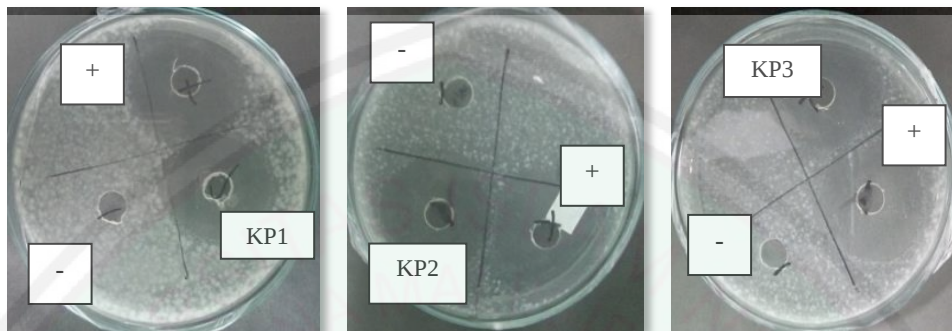
KP3: Tumbuh

KP4: Tidak tumbuh

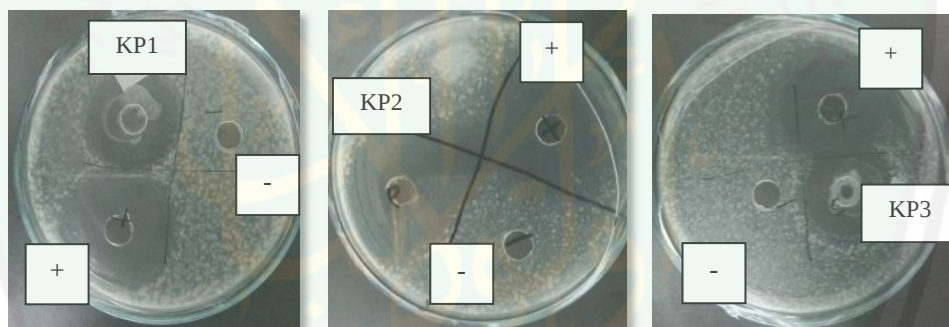
KP5: Tumbuh

Lampiran 14. Gambar Hasil Uji Antibakteri dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*)

Escherichia coli



Staphylococcus aureus

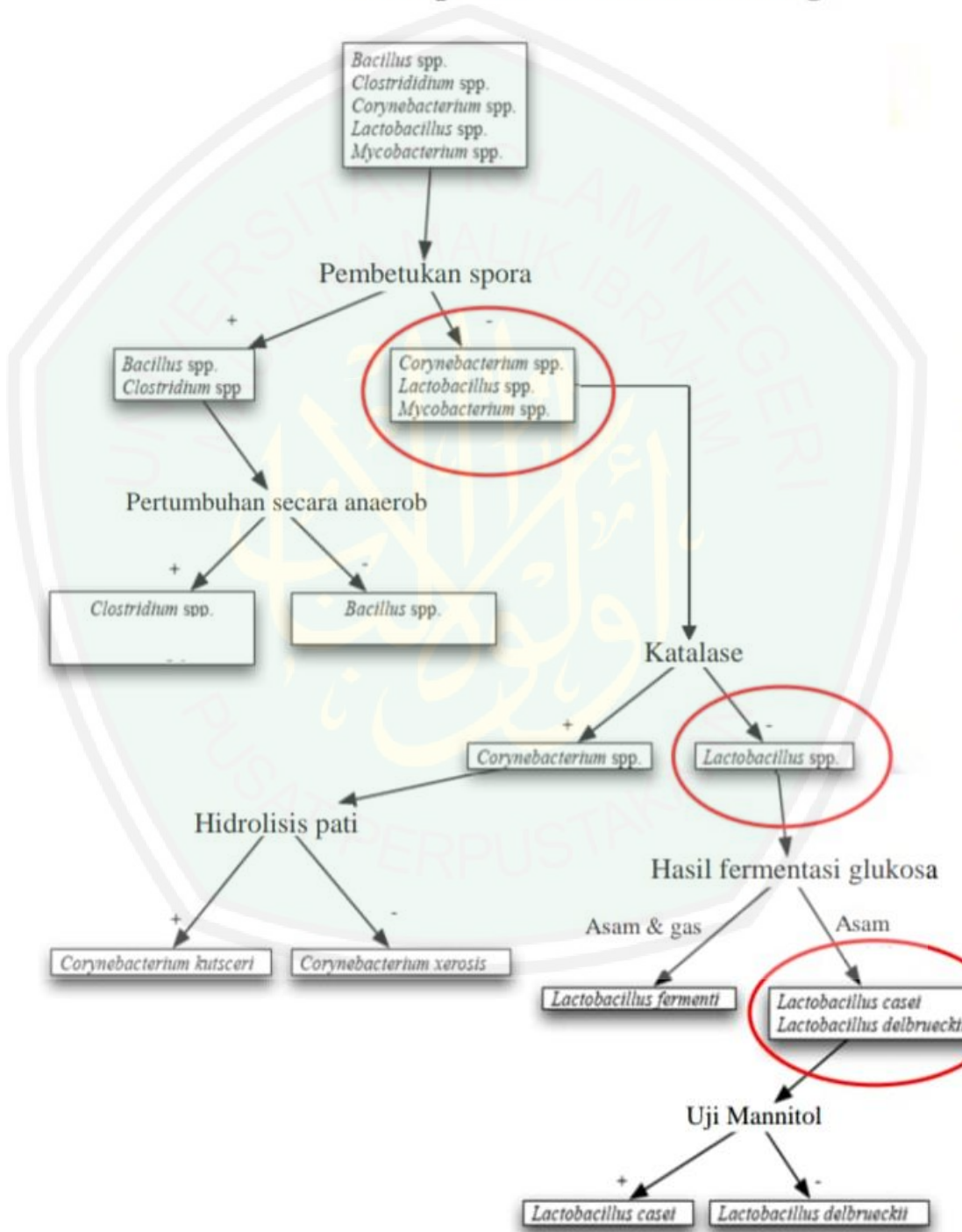


Lampiran 15. Gambar Regenerasi Mikroba Uji



Lampiran 16. Diagram Alur *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Gram positif berbentuk batang



Lampiran 17

Data Analisis Uji Antibakteri

```
UNIANOVA Data BY Perlakuan
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /POSTHOC=Perlakuan(DUNCAN LSD)
  /PLOT=PROFILE(Perlakuan)
  /EMMEANS=TABLES(Perlakuan)
  /PRINT=HOMOGENEITY
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=Perlakuan.
```

Univariate Analysis of Variance

Notes		
Output Created		22-AUG-2018 21:56:54
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	91
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.
Syntax		UNIANOVA Data BY Perlakuan /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=Perlakuan(DUNCAN LSD) /PLOT=PROFILE(Perlakuan) /EMMEANS=TABLES(Perlakuan) /PRINT=HOMOGENEITY /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Perlakuan.
Resources	Processor Time	00:00:01,41
	Elapsed Time	00:00:01,62

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1,00	Positif E. coli Kp 1	5
	2,00	Positif E. coli Kp 2	5
	3,00	Positif E. coli Kp 3	5
	4,00	Positif S. aureus Kp1	5
	5,00	Positif S. aureus Kp2	5
	6,00	Positif S. aureus Kp3	5
	7,00	Negatif E. coli	15
	8,00	Negatif S. aureus	15
	9,00	Kp1 E. coli	5
	10,00	Kp2 E. coli	5
	11,00	Kp3 E. coli	5
	12,00	Kp1 S. aureus	5
	13,00	Kp2 S. aureus	5
	14,00	Kp3 S. aureus	5

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Data

F	df1	df2	Sig.
6,452	13	76	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Perlakuan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11405,625 ^a	13	877,356	137,059	,000
Intercept	26581,678	1	26581,678	4152,533	,000
Perlakuan	11405,625	13	877,356	137,059	,000
Error	486,500	76	6,401		
Total	30597,750	90			
Corrected Total	11892,125	89			

a. R Squared = ,959 (Adjusted R Squared = ,952)

Data								
			Subset					
	Perlakuan	N	1	2	3	4	5	6
Duncan ^{a,b,c}	Negatif E. coli	15	,0000					
	Negatif S. aureus	15	,0000					
	Kp1 S. aureus	5		9,9000				
	Kp2 S. aureus	5			13,8000			
	Kp3 E. coli	5			15,4000	15,4000		
	Kp3 S. aureus	5				17,8000	17,8000	
	Kp1 E. coli	5					19,3000	
	Positif S. aureus Kp1	5						24,9000
	Positif S. aureus Kp3	5						24,9000
	Positif E. coli Kp 1	5						25,6000
	Kp2 E. coli	5						26,0000
	Positif E. coli Kp 3	5						27,2000
	Positif S. aureus Kp2	5						27,2000
	Positif E. coli Kp 2	5						27,5000
	Sig.		1,000	1,000	,296	,119	,328	,146

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6,401.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,526.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Estimated Marginal Means

Perlakuan

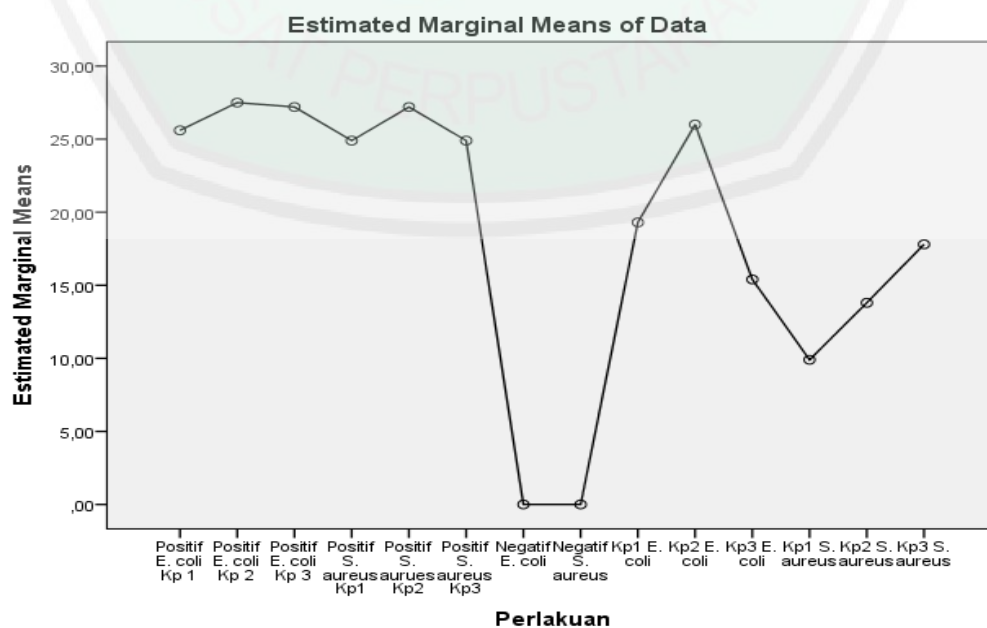
Dependent Variable: Data

Perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Positif E. coli Kp 1	25,600	1,131	23,346	27,854
Positif E. coli Kp 2	27,500	1,131	25,246	29,754
Positif E. coli Kp 3	27,200	1,131	24,946	29,454
Positif S. aureus Kp1	24,900	1,131	22,646	27,154
Positif S. aureus Kp2	27,200	1,131	24,946	29,454
Positif S. aureus Kp3	24,900	1,131	22,646	27,154
Negatif E. coli	,000	,653	-1,301	1,301
Negatif S. aureus	,000	,653	-1,301	1,301
Kp1 E. coli	19,300	1,131	17,046	21,554
Kp2 E. coli	26,000	1,131	23,746	28,254
Kp3 E. coli	15,400	1,131	13,146	17,654
Kp1 S. aureus	9,900	1,131	7,646	12,154
Kp2 S. aureus	13,800	1,131	11,546	16,054
Kp3 S. aureus	17,800	1,131	15,546	20,054

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Profile Plots





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Aulia Ulinnuha
NIM : 14620007
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018-2019
Pembimbing : Ir. Liliek Haranie, A.R., M.P
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	23 Januari 2018	Pengajuan Judul Skripsi	1.
2.	30 Januari 2018	ACC Judul Skripsi	2.
3.	12 Februari 2018	Konsultasi BAB I, II dan III	3.
4.	27 Februari 2018	Revisi Ke-1 BAB I dan III	4.
5.	14 Maret 2018	Revisi Ke-2 BAB I, II dan III	5.
6.	28 Maret 2018	Revisi Ke-3 BAB I, II dan III	6.
7.	06 April 2018	ACC BAB I, II dan III	7.
8.	27 Juli 2018	Konsultasi BAB IV	8.
9.	03 Agustus 2018	Konsultasi Revisi Ke-1 BAB IV	9.
10.	06 Agustus 2018	Konsultasi Revisi Ke-2 BAB IV	10.
11.	13 Agustus 2018	ACC Skripsi	11.
12.	31 Agustus 2018	ACC Keseluruhan	12.

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Romaidi, M.Si., D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019

Malang, 31 Agustus 2018
Pembimbing Skripsi

Ir. Liliek Haranie, A.R., M.P
NIP. 19620901 199803 2 001



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Aulia Ulinnuha
NIM : 14620007
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018-2019
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10 April 2018	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan II	1.
2.	11 April 2018	Konsultasi Hasil Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan II	2.
3.	12 April 2018	ACC BAB I, II dan III	3.
4.	31 Juli 2018	Konsultasi BAB IV	
4.	07 Agustus 2018	Konsultasi Hasil Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB IV	4.
5.	15 Agustus 2018	ACC Skripsi	5.
6.	15 Agustus 2018	ACC Keseluruhan	

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Romaidi, M.Si., D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019

Malang, 31 Agustus 2018
Pembimbing Skripsi

Umayyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005