

**ANALISIS ASAM LAKTAT, HIDROGEN PEROKSIDA, DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT TRANSMISI AIR SUSU IBU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**KHOIRUN NISA'**  
NIM. 16620006



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**ANALISIS ASAM LAKTAT, HIDROGEN PEROKSIDA, DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT TRANSMISI AIR SUSU IBU**

**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:**

**KHOIRUN NISA'**

**NIM. 16620006**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

ANALISIS ASAM LAKTAT, HIDROGEN PEROKSIDA, DAN  
AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI AIR  
SUSU IBU

SKRIPSI

Oleh:

KHOIRUN NISA'  
NIM. 16620006

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal 16 Desember 2020

Dosen Pembimbing I



Dr. Nur Kusmiyati, M.Si  
NIP. 19890816 20160108 2 061

Dosen Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd I  
NIP. 19890113 20180201 1 244



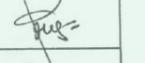
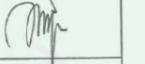
Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi  
*[Handwritten signature]*  
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

**ANALISIS KADAR ASAM LAKTAT, HIDROGEN PEROKSIDA, DAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT TRANSMISI AIR SUSU IBU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**KHOIRUN NISA'**  
NIM. 16620006

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima  
sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal:

Penguji Utama	<u>Ir. Liliek Harianie AR., M.P</u> NIP. 196209011998032001	
Ketua Penguji	<u>Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc</u> NIP. 19900428201608012062	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Nur Kusmiyati, M.Si</u> NIP. 19890816201601082061	
Anggota Penguji	<u>Oky Bagas Prasetyo, M.Pd I</u> NIP.197312121998031008	

Mengesahkan,

**Ketua Jurusan**



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
NIP. 197410182003122002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahman dan rahim dalam kehidupan saya, serta memberikan ridlo sehingga saya tetap bisa bertahan di titik ini untuk menyelesaikan tugas akhir dan segala permasalahan kehidupan. Semoga senantiasa Engkau berikan keberkahan atas ilmu yang didapatkan, dan senantiasa Engkau jadikan ini sebagai jembatan untuk menuju keberkahan-keberkahan yang lain. Sholawat dan salam terpanjatkan untuk Nabi Muhammad SAW. yang telah berjuang melebarkan sayap Islam sehingga membawa umatnya di dalam jalan yang diridhoi Allah SWT.

*Karya yang jauh dari kata sempurna ini saya persembahkan kepada orang-orang  
hebat dan luar biasa yang menyertai kehidupan saya.*

1. Ayah Sukiyat dan Ibu Wiwik Zulaila, yang telah menjadi segalanya untuk memberikan saya segalanya.
2. Abu Muslim Sighot Amir dan Fina Fiaf Al Kholilah, adik-adikku yang aku sayangi, yang telah memberi warna di hidupku serta secara tidak langsung mengajarkanku menjadi pribadi yang lebih baik hingga saat ini.
3. Ibu dan bapak dosen pembimbing, Ibu Dr. Nur Kusmiyati, M. Si dan Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I. yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan semangat hingga sampai pada tahap ini.
4. Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc dan Mbak Retno Novvitasari HD., M. Sc, selaku kepala dan laboran Laboratorium Mikrobiologi yang telah membimbing dan memberikan pengalaman selama berkerja di laboratorium.
5. Sobat tim riset, Safitriah Diningrum, M. Abdillah Mahali, dan Fakhri Fauzan Azhim. Terima kasih telah saling mendengar dan saling memberi solusi, sehingga memberi warna dalam perjuangan bersama ini.

6. Teman-teman peneliti mikrobiologi yang terlalu banyak jika dituliskan namanya satu persatu. Terima kasih telah saling membantu, saling berbagi ilmu dan informasi, serta telah menggoreskan cerita suka dan duka di laboratorium setiap harinya.
7. Terima kasih kepada Mohammad Roofi'i yang telah memberikan support kepada saya selama ini.
8. Keluarga besar Biologi angkatan 2016 "Gading Putih" terutama keluarga kecil ABIO funky dan asisten laboratorium 2016, yang telah menemani perjuangan selama kuliah. Terkhusus Yunita, Lina, Meri, dan Rahmi, terima kasih telah menjadi sahabat tak tertulis di kertas namun terukir di hati.
9. Saudara dalam keluarga besar Korps Suka Rela – Palang Merah Indonesia (KSR-PMI) Unit UIN Malang, terima kasih telah memberi banyak pelajaran dan pengalaman berharga, "*Siamo tutti fratelli*".
10. Semua orang yang telah menjadi guru dalam hidup saya.

Semoga Allah membalas atas segala yang diberikan dengan kebaikan yang berkali-kali lipat. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi Saya dan orang lain. *Aamiin ya rabbal aalamiin.*

**MOTTO**

*“You must responsible for your choices”*

*“Jadilah mata air yang jernih, yang memberikan kehidupan  
kepada sekitarmu!”*

*-Bacharuddin Jusuf Habibie-*

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Khoirun Nisa'  
NIM : 16620006  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Analisis Asam laktat, Hidrogen Peroksid, dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat Transmisi Air Susu Ibu

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

Malang, 7 Desember 2020

Yang membuat pernyataan,



Khoirun Nisa'  
NIM. 16620006

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutnya.

## ABSTRAK

### Analisis Asam Laktat, Hidrogen Peroksida, dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat Transmisi Air Susu Ibu

Khoirun Nisa', Oky Bagas Prasetyo, Nur Kusmiyati

Antibakteri telah berperan penting dalam mengurangi tingkat kematian manusia akibat infeksi bakteri. Antibakteri banyak bersumber dari makhluk hidup berupa metabolit primer maupun sekunder termasuk dari mikroorganisme. Bakteri asam laktat (BAL) dapat menjadi salah satu sumber antibakteri untuk melawan pertumbuhan bakteri patogen karena keberadaannya yang secara alami berkompetisi dengan bakteri patogen pada saluran pencernaan, saluran kemih, dan saluran vagina manusia. Air susu ibu (ASI) mengandung nutrisi kompleks yang dibutuhkan untuk pertumbuhan BAL, sehingga ASI dijadikan media transmisi untuk isolasi BAL. BAL memiliki aktivitas antibakteri karena dapat memproduksi agen antibakteri yang salah satunya adalah asam laktat dan hidrogen peroksida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar asam laktat dan hidrogen peroksida isolat BAL dari ASI serta aktivitas antibakterinya. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji kadar senyawa asam laktat dan hidrogen peroksida menggunakan metode titrasi, sedangkan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur agar. Pengujian kadar senyawa asam laktat dan hidrogen peroksida dilakukan pada isolat BAL berkode B1A $10^{-4}$ mid, B5C $10^{-3}$ mid, C4A $10^{-4}$ up, C1B $10^{-3}$ mid, E3A $10^{-3}$ mid, E3B $10^{-4}$ mid, F4A $10^{-3}$ mid, dan F4B $10^{-3}$ up dengan waktu inkubasi 48 jam. Sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan pada BAL dengan kadar asam laktat dan hidrogen peroksida tertinggi terhadap bakteri indikator *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf  $\alpha=5\%$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar asam laktat berbeda pada tiap isolat bakteri asam laktat dengan kadar tertinggi adalah isolat F4B $10^{-3}$ up yaitu sebesar 19,517 g/l. Kadar hidrogen peroksida berbeda tiap isolat BAL dengan kadar tertinggi adalah isolat E3A $10^{-3}$ mid dan F4B $10^{-3}$ up yaitu sebesar 0,078 g/l. Kultur bebas sel isolat F4B $10^{-3}$ up memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan memiliki aktivitas antibakteri kategori baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata kunci:** *bakteri asam laktat, asam laktat, hidrogen peroksida, aktivitas antibakteri.*

## ABSTRACT

### Analysis of Lactic Acid, Hydrogen Peroxide, and Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Transmission of Human Breast Milk

Khoirun Nisa<sup>1</sup>, Oky Bagas Prasetyo, Nur Kusmiyati

Antibacterials play an important role in reducing human mortality due to bacterial infections. Antibacterial come from many living things in the form of primary and secondary metabolites, including from microorganisms. Lactic acid bacteria (LAB) can be a source of antibacterials to fight the growth of pathogenic bacteria because their presence naturally competes with pathogenic bacteria in the digestive tract, urinary tract, and human vaginal tract. Breast milk (ASI) contains complex nutrients needed for LAB growth so that breast milk is used as a transmission medium for LAB isolation. LAB has antibacterial activity because it can produce antibacterial agents, one of which is lactic acid and hydrogen peroxide. This study aims to determine the differences in levels of lactic acid and hydrogen peroxide, the isolation of LAB from breast milk, and its antibacterial activity. This study used a completely randomized design (CRD). Test the levels of lactic acid and hydrogen peroxide compounds using the titration method, while the antibacterial activity test uses the agar well diffusion method. Testing the levels of lactic acid and hydrogen peroxide compounds were carried out on LAB isolates coded B1A10-4mid, B5C10-3mid, C4A10-4up, C1B10-3mid, E3A10-3mid, E3B10-4mid, F4A10-3mid, and F4B10-3up with an incubation time of 48 hours. While the antibacterial activity test was carried out on LAB with the highest levels of lactic acid and hydrogen peroxide against the indicator bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The data obtained were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and advanced Duncan Multiple Range Test (DMRT) with a level of  $\alpha = 5\%$ . The results showed that different levels of lactic acid in each isolate of lactic acid bacteria with the highest levels were isolated F4B10-3, which was 19,517 g / L. 0.078 g / L. The cell-free culture of isolate F4B10-3up has strong antibacterial activity against *Escherichia coli* and has good antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria.

**Key words:** *lactic acid bacteria, lactic acid, hydrogen peroxide, antibacterial activity*

## مستخلص البحث

**تحليل حمض اللاكتيك، بيروكسيد الهيدروجين، ونشاط مضاد الجراثيم بكتيريا حمض اللاكتيك من الحليب  
الثدي**  
خير النساء، أوكى باجاس براسيتيو، نور كوسمياتي

لعب مضاد الجراثيم دوراً مهماً في تقليل مستوى الوفاة بسبب الالتهابات البكتيرية. ينتج مضاد الجراثيم غالباً من الكائنات الحية في شكل مستقبلات الأساسية أو الثانوية بما في ذلك الكائنات الحية الدقيقة. أصبح بكتيريا حمض اللاكتيك إحدى مصادر مضاد الجراثيم لمحاربة نمو البكتيريا المسببة للأمراض بسبب وجودها التي تتناقض في شكل طبيعي مع البكتيريا المسببة للأمراض في الجهاز الهضمي والمسالك المهبلية للإنسان. كانت بكتيريا حمض اللاكتيك لها نشاط مضاد للجراثيم لأنها تقدر على إنتاج عامل مضاد للجراثيم منها حمض اللاكتيك وبيروكسيد الهيدروجين. الهدف من هذا البحث هو معرفة وجود اختلاف قدر حمض اللاكتيك وعزل بيروكسيد الهيدروجين من الحليب الثدي ونشاط مضاد للجراثيم. استخدم هذا البحث تصميمياً عشوائياً تماماً. اختبر قدر حمض اللاكتيك ومركبات بيروكسيد الهيدروجين باستخدام طريقة المعايرة، بينما يستخدم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا طريقة انتشار الأجرار. تم اختبار قدر حمض اللاكتيك ومركبات بيروكسيد الهيدروجين على B1A10<sup>-4</sup>mid, B5C10<sup>-3</sup>mid, C4A10<sup>-4</sup>up, C1B10<sup>-3</sup>mid, E3A10<sup>-3</sup>mid, E3B10<sup>-4</sup>mid, F4B10<sup>-3</sup>mid, F4A10<sup>-3</sup>up مع زمن حضانة 48 ساعة. أما إجراء اختبار النشاط المضاد للجراثيم فتم على بكتيريا حمض اللاكتيك مع أعلى أقدار حمض اللاكتيك وبيروكسيد الهيدروجين ضد البكتيريا المؤشر المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية. تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها باستخدام تحليل التباين واختبار مستمر متعدد المدى المتقدم بمستوى 5% =  $\alpha$ . دلت نتيجة هذا البحث إلى أن قدر حمض اللاكتيك يختلف في كل الفزلات البكتيرية لحمض اللاكتيك بأعلى الأقدار عزل F4B10<sup>-3</sup>up. يختلف قدر بيروكسيد الهيدروجين كل عزل بكتيريا حمض اللاكتيك بأعلى أقدار العزل F4B10<sup>-3</sup>up و F4B10<sup>-3</sup>mid. عزل F4B10<sup>-3</sup>up لها نشاط المضاد للجراثيم القوي على بكتيريا الإشريكية القولونية ولها نشاط المضاد للجراثيم الجيد على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية.

**الكلمات الرئيسية:** بكتيريا حمض اللاكتيك، حمض اللاكتيك، بيروكسيد الهيدروجين، نشاط المضاد للجراثيم

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayat, dan berkah. Sholawat dan salam penulis panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW serta keluarga dan sahabatnya, sehingga skripsi dengan judul **Analisis Asam Laktat, Hidrogen Peroksida, dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat Transmisi Air Susu Ibu** ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam penyelesaian skripsi ini, diantaranya:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si, selaku pembimbing skripsi bidang Biologi serta Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku dosen pembimbing skripsi bidang Integrasi Sains dalam Islam yang telah memberikan arahan, bimbingan, semangat dan waktu untuk membimbing penulis.
5. Bapak dan Ibu dosen serta staf jurusan Biologi maupun Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Kedua orang tua penulis (Ayah Sukiyat dan Ibu Wiwik Zulaila) yang tidak pernah berhenti memberikan doa, pendidikan, motivasi, dan dukungan dalam segala bentuk kepada penulis.
7. Tim riset (Safitriah Diningrum, M. Abdillah Mahali, dan Fakhri Fauzan Azhim), terima kasih atas semangat, dukungan dan kerjasamanya selama penggerjaan skripsi ini.

8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, atas keikhlasan bantuan motivasi, doa, dan saran, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah membala kebaikan mereka semua. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak terutama dalam pengembangan ilmu biologi dan penulis secara pribadi. *Aamiin ya rabbal aalamiin.*

Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Malang, 7 November 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT .....	x
مستخلص البحث.....	xi
KATA PENGANTAR .....	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR RUMUS .....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
BAB I.....	1
PENDAHULUAN .....	1
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Rumusan Masalah.....	8
1.3    Tujuan .....	8
1.4    Hipotesis .....	9
1.5    Manfaat Penelitian .....	9
1.6    Batasan Masalah .....	9
BAB II.....	11
TINJAUAN PUSTAKA .....	11
2.1    Bakteri Asam Laktat .....	11
2.1.1    Klasifikasi dan Habitat.....	11
2.1.2    Deskripsi .....	12
2.1.3    Metabolisme Bakteri Asam Laktat.....	13
2.2    Air Susu Ibu .....	16
2.2.1    Deskripsi Umum .....	16

2.2.2	Kandungan Air Susu Ibu.....	17
2.1.2.1	Makronutrien.....	17
2.1.2.2	Mikronutrien .....	19
2.3	Asam Laktat .....	20
2.3.1	Deskripsi Asam Laktat.....	20
2.3.2	Biosisntesis Asam Laktat oleh Bakteri Asam Laktat .....	20
2.4	Hidrogen Peroksida.....	23
2.4.1	Deskripsi Hidrogen Peroksida .....	23
2.4.2	Biosintesis Hidrogen Peroksida oleh Bakteri Asam Laktat .....	24
2.5	Aktivitas Antibakteri.....	25
2.6	Mekanisme Aktivitas Antibakteri .....	26
2.6.1	Mekanisme Aktivitas Antibakteri Asam Laktat.....	26
2.6.2	Mekanisme Aktivitas Antibakteri Hidrogen Peroksida .....	26
2.7	Titrasi .....	28
2.7.1	Titrasi Asam Basa .....	28
2.7.2	Titrasi Redoks .....	29
BAB III	.....	31
METODE PENELITIAN	.....	31
3.1	Rancangan Penelitian.....	31
3.2	Variabel Penelitian.....	31
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.4	Alat dan Bahan Penelitian.....	32
3.3.1	Alat penelitian .....	32
3.3.2	Bahan Penelitian .....	32
3.5	Prosedur Penelitian .....	32
3.5.1	Sterilisasi Alat dan Bahan .....	32
3.5.2	Pembuatan Media.....	32
3.5.3	Peremajaan Bakteri Asam Laktat.....	34

3.5.4	Pembuatan Kultur Bebas Sel.....	34
3.5.5	Pengukuran Kadar Senyawa Asam Laktat dan Hidrogen peroksida.....	34
3.5.6	Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	36
3.5.7	Analisis Data .....	37
BAB IV .....		38
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Kadar Senyawa Asam Laktat Isolat Bakteri Asam Laktat.....	38
4.2	Kadar Senyawa Hidrogen Peroksida Isolat Bakteri Asam Laktat.....	42
4.3	Aktivitas Antibakteri Kultur Bebas Sel Isolat Bakteri Asam Laktat .....	45
BAB V .....		51
PENUTUP .....		51
5.1	Kesimpulan .....	51
5.2	Saran .....	51
DAFTAR PUSTAKA .....		52
LAMPIRAN.....		62

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Indikator yang digunakan dalam titrasi asam basa .....	28
Tabel 4. 1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri .....	46

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2. 1 Pathway metabolisme gula oleh bakteri asam laktat.....	14
Gambar 2. 2 Pathway metabolisme sitrat oleh bakteri asam laktat.....	15
Gambar 2. 3 Pathway metabolisme protein oleh bakteri asam laktat .....	16
Gambar 2. 4 Gumpalan lemak pada air susu ibu .....	19
Gambar 2. 5 Struktur molekul asam laktat .....	20
Gambar 2. 6 Pathway biosintesis asam laktat oleh bakteri asam laktat homofermentatif jalur EMP .....	22
Gambar 2. 7 Pathway biosintesis asam laktat oleh bakteri asam laktat heterofermentatif jalur PK.....	23
Gambar 2. 8 Pathway alternatif metabolisme piruvat.....	25
Gambar 4. 1 Kadar senyawa asam laktat isolat bakteri asam laktat dari air susu ibu .....	38
Gambar 4. 2 Kadar senyawa hidrogen peroksida isolat bakteri asam laktat dari air susu ibu .....	43
Gambar 4. 4 Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur agar .....	46

## DAFTAR RUMUS

Rumus 3. 1 Perhitungan kadar senyawa asam laktat .....	35
Rumus 3. 2 Perhitungan kadar senyawa hidrogen peroksida.....	35
Rumus 3. 3 Diameter zona hambat .....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Karakter Isolat Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu .....	62
Lampiran 2. Data Perhitungan Kadar.....	67
2. 1 Kadar Asam Laktat .....	67
2. 2 Kadar Hidrogen peroksida .....	69
Lampiran 3. Data Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	71
Lampiran 4. Data Hasil SPSS .....	72
4. 1 Kadar Senyawa Asam Laktat .....	72
4. 2 Kadar Hidrogen Peroksida .....	73
4. 3 Aktivitas Antibakteri .....	75
Lampiran 5. Gambar Pengamatan.....	77
5. 1 Pengukuran kadar asam laktat.....	77
5. 2 Pengukuran kadar hidrogen peroksida .....	77
5. 3 Pengukuran zona hambat .....	77

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Talaro, 2008). Antibakteri dibagi menjadi dua tipe berdasarkan cara kerjanya, yaitu bakteriostatis dan bakterisidal. Bakteriostatis adalah tipe antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sedangkan bakterisidal adalah tipe antibakteri yang dapat membunuh bakteri patogen dalam waktu dan konsentrasi tertentu (Rigos & Troisi, 2005). Menurut Talaro (2008), mekanisme antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri patogen dibagi menjadi empat macam. Mekanisme tersebut antara lain dengan menghambat sintesis dinding sel, menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis protein, dan menghambat sintesis asam nukleat.

Allah SWT berfirman dalam QS. Ali Imran ayat 190;

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاحِدَةٌ لِلَّهِ وَالنَّهَارُ لَا يَنْبَغِي لِأَوْلَى الْكَبَابِ ۝

Terjemah (Kemenag, 2002); Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal.

Kata *al-baab* adalah jamak dari *luub* yaitu saripati sesuatu. Terdapat lafadz “*la aayaatil li uulil albaab*” yang artinya “benar-benar terdapat tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berakal”. Menurut Tafsir Fi Zhilalil Quran oleh Sayyid Quthb, *ulul albab* adalah orang yang melakukan dua hal, yaitu *tadzakkur* dan *tafakkur*. *Tadzakkur* artinya mengingat Allah dengan ucapan atau hati dalam kondisi saat bekerja maupun istirahat, sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring. Sedangkan *tafakkur* artinya memikirkan ciptaan Allah, yakni kejadian di alam semesta dengan mengetahui, memahami, dan menghayati bahwa fenomena alam dan segala sesuatu menunjukkan adanya sang Pencipta. Tafsir Al-Mishbah menyatakan

bahwa dalam surat ini ditegaskan kepemilikan Allah SWT atas alam raya, maka disini Allah menguraikan sekelumit dari penciptaan-Nya itu serta memerintahkan agar memikirkannya. Tujuannya adalah untuk membuktikan keesaan dan kekuasaan Allah SWT (Shihab, 2002).

Rasullah SAW bersabda dalam sebuah hadits riwayat Ibnu Mas'ud;

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ وَعَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ

Terjemah: Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya. (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453. Hadits ini dishahihkan dalam Ash-Shahihah no. 451)

Hadits diatas menjelaskan bahwa seluruh penyakit terdapat obat yang dapat menyembuhkan, mencegah, atau mengurangi dampaknya. Berdasarkan ayat al-quran dan hadits di atas dapat diambil hikmahnya bahwa kita sebagai manusia hendaknya berusaha untuk mencari solusi dari permasalahan dengan mempelajari ciptaan-Nya. Termasuk usaha untuk mencari sumber antibakteri baru terutama yang bersumber dari makhluk hidup.

Sebagian besar obat yang banyak digunakan secara klinis termasuk agen antibakteri bersumber dari molekul alami terutama metabolit sekunder (Taylor, 2013). Agen antibakteri yang digunakan secara klinis tidak terkecuali bersumber dari mikroorganisme (Hopwood, 2007). Bakteri asam laktat dapat memproduksi agen antibakteri (Noordiana *et al.*, 2013). Menurut Agriopoulou *et al.* (2020), senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat diantaranya adalah asam organik (laktat, sitrat, asetat, fumarat, dan malat), hidrogen peroksida, CO<sub>2</sub>, diasetil, etanol, reuterin, asetaldehid, asetoin, amonia, bakteriosin, dan substansi penghambat seperti bakteriosin / *bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS)*.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, dan merupakan bakteri katalase negatif yang tidak memiliki sitokrom. BAL

merupakan bakteri non-aerob, tetapi masih toleran terhadap kondisi aerob. BAL memiliki toleransi terhadap asam, dan bersifat fermentatif ketat (Šušković *et al.*, 2010). Kelompok BAL yang masuk dalam filum *Firmicutes* terdiri dari enam famili yang kesemuanya masuk dalam ordo *Lactobacillales*, kelas *Bacilli* (Agriopoulou *et al.*, 2020). Sedangkan kelompok BAL yang masuk dalam filum *Actinobacterium* merupakan anggota dari ordo *Bifidobacteriales*, kelas *Actinobacteria*, dan famili *Bifidobacteriaceae* (Holzapfel & Wood, 2014).

Bakteri asam laktat dalam tubuh manusia ditemukan pada saluran gastrointestinal, saluran kemih, dan saluran vagina. Keberadaan BAL berfungsi untuk berkompetisi dengan bakteri patogen yang terdapat pada organ tersebut (Pasolli *et al.*, 2020; Silvester & Dicks, 2003). Bakteri patogen yang terdapat pada saluran gastrointestinal adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan *Aeromonas caviae* (Chen *et al.*, 2020). Bakteri patogen yang terdapat pada saluran kemih diantaranya adalah *E. coli*, *P. mirabilis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, dan *E. faecium* (Farrell *et al.*, 2003). Bakteri patogen yang terdapat pada saluran vagina adalah *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus agalactiae* (Zárate & Nader-Macias, 2006).

Menurut Wakil & Osamwonyi (2011), bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik Gram positif maupun Gram negatif. Perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif terdapat pada komponen dinding selnya. Komponen dinding sel pada bakteri Gram positif terdiri atas peptidoglikan berlapis tebal (PG, disebut juga dengan murein), asam teichoat, asam lipoteichoat, S-layer, dan polisakarida. Bakteri Gram positif hanya memiliki satu membran plasma. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki dua amplop membran dan peptidoglikan (PG) berlapis tipis (Sintubin *et al.*, 2009). Contoh bakteri patogen dari kelompok bakteri Gram positif adalah bakteri *Bifidobacterium adolescentis*, *Clostridium*

*perflingens*, *Corynebacterium minutissimum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus mitis* (Hessle *et al.*, 2000). Sedangkan contoh bakteri patogen kelompok bakteri Gram negatif adalah *Acinetobacter baumanii*, *Bacteroides fragilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Feezor *et al.*, 2003).

Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa utama yaitu asam laktat sebagai metabolit sekunder. Asam laktat adalah senyawa kimia yang memiliki dua enansioner, memiliki gugus fungsi hidroksil dan karboksil, yaitu D- asam laktat dan L- asam laktat. Asam laktat (2-hidroxypropanoic acid,  $(\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH})$ ) merupakan senyawa asam organik penting yang telah lama dimanfaatkan dalam industri makanan, kosmetik, kesehatan, farmasi, dan agrikultur (Zhang *et al.*, 2018). Terdapat dua mekanisme penghambatan oleh asam laktat sehingga bakteri patogen mengalami bakteriostatis. Mekanisme pertama asam laktat berdifusi ke dalam membran sel dan berdisosiasi menurunkan kondisi pH dalam sitoplasma. Mekanisme kedua adalah perusakan gradien proton elektrokimia (Schnürer & Magnusson, 2005).

Bakteri asam laktat juga menghasilkan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida adalah cairan tidak berwarna, tidak berbau, memiliki sifat kelarutan *miscible* dalam air (Niedzwecki *et al.*, 2017). Hidrogen peroksida memiliki aktivitas antibakteri tipe bakterisidal dengan merusak lipid, protein, dan asam nukleat (Murphy & Friedman, 2019). Aktivitas antibakteri senyawa ini terjadi karena reaksi neutralisasi yang menghasilkan radikal bebas (Kwakman & Zaai, 2012). Hidrogen peroksida akan membentuk radikal hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ) yang sangat reaktif dan memiliki aktivitas antibakteri secara cepat dengan konsentrasi rendah. Radikal hidroksil akan menyerang beberapa target seluler (Alkawareek *et al.*, 2019).

Asam laktat digolongkan sebagai asam organik bersama dengan asam asetat, propionat, sorbat, dan benzoate berdasarkan pengelompokan agen antibakteri yang dihasilkan oleh BAL, sedangkan hidrogen peroksida termasuk dalam kelompok

senyawa lain bersama dengan diasetil, karbondioksida, dan asetil dehida (Yang *et al.*, 2012). Kedua senyawa tersebut dianalisis kadarnya untuk menentukan isolat BAL yang akan digunakan sebagai isolat uji aktivitas antibakteri. Senyawa tersebut dipilih karena merupakan senyawa yang paling mudah untuk diamati.

Bakteri asam laktat membutuhkan nutrisi yang kompleks untuk pertumbuhannya. Nutrisi tersebut antara lain karbohidrat mudah larut yang akan digunakan sebagai sumber energi dan metabolisme, protein sebagai sumber nitrogen untuk pembentukan biomassa sel (Widodo dkk., 2015). Menurut (Sabel *et al.*, 2014), selain karbohidrat dan protein, BAL juga membutuhkan vitamin. Vitamin yang dibutuhkan untuk pertumbuhan BAL adalah vitamin B1, B6, B12, dan biotin (Sutrisna dkk., 2017). BAL ditemukan pada lingkungan yang kaya akan nutrisi, dan secara alami terdapat pada berbagai produk makanan seperti susu, produk daging, dan sayuran (Schnürer & Magnusson, 2005).

Susu adalah media pertumbuhan yang baik untuk BAL karena mengandung nutrisi kompleks yang dibutuhkan BAL. Susu mengandung lebih banyak karbohidrat yang dapat difermentasi BAL dibandingkan dengan produk bukan susu (Helland *et al.*, 2004). Kuantitas karbohidrat yang terkandung dalam berbagai jenis susu bervariasi. Susu sapi mengandung oligosakarida sebesar 1 g/l, susu kambing 0,25-0,39 g/l, dan susu domba 0,02-0,04 g/l (Urashima *et al.*, 2013). Susu dengan kandungan oligosakarida tertinggi adalah air susu ibu (ASI), yaitu 10-20 g/l (Asakuma *et al.*, 2011). Berdasarkan data tersebut maka disimpulkan ASI adalah media yang baik untuk pertumbuhan BAL karena mengandung lebih banyak karbohidrat dibandingkan dengan susu lain.

Air susu ibu (ASI) adalah susu yang diproduksi oleh kelenjar mammae ibu untuk dikonsumsi oleh bayi (Harianto dkk., 2019). ASI mengandung karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral (Hidayat dkk., 2015). ASI merupakan sumber nutrisi utama bayi dan transmisi berbagai mikroorganisme. Famili BAL yang umum ditemukan dalam ASI adalah *Streptococcaceae*, *Pseudomonadaceae*,

*Staphylococcaceae*, *Lactobacillaceae*, dan *Oxalobacteraceae* (Kang *et al.*, 2020). Penelitian Martín *et al.* (2012) mengisolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu dengan hasil BAL yang didapatkan antara lain kelompok *Staphylococci*, *Streptococci*, *Bifidobacteria*, dan *Lactobacillus*.

Penelitian ini menggunakan isolat BAL yang diisolasi dari ASI pada penelitian sebelumnya. Karakteristik isolat-isolat tersebut yaitu isolat B<sub>1</sub>A10<sup>-4</sup>mid memiliki bentuk kokus dengan pola penataan tak teratur membentuk gerombolan (stafilocokus), B<sub>5</sub>C10<sup>-3</sup>mid berbentuk stafilocokus, C<sub>1</sub>B10<sup>-3</sup>mid berbentuk basil dengan pola penataan rantai (streptobasilus), C<sub>4</sub>A10<sup>-4</sup>up berbentuk streptobasilus, E<sub>3</sub>A10<sup>-3</sup>mid berbentuk streptokokus, E<sub>3</sub>B10<sup>-4</sup>mid berbentuk stafilocokus, F<sub>4</sub>A10<sup>-3</sup>mid berbentuk streptobasilus, dan F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up berbentuk streptobasilus. Semua isolat merupakan bakteri Gram positif berdasarkan uji pewarnaan Gram, tidak miliki endospora pada uji pewarnaan endospora, dan tidak menghasilkan gelembung pada uji katalase (katalase negatif) (Lampiran 1).

Beberapa penelitian mengenai kadar asam laktat dan hidrogen peroksida telah dilakukan. Penelitian tersebut bertujuan mencari waktu inkubasi optimum untuk memproduksi senyawa asam laktat dan hidrogen peroksida. Penelitian yang dilakukan oleh Wakil & Osamwonyi (2011), menyatakan bahwa waktu inkubasi untuk memproduksi asam laktat dan hidrogen peroksida paling optimum oleh sebagian besar isolat bakteri asam laktat adalah pada jam ke-48. Kadar asam laktat pada waktu inkubasi 24 jam sebesar 0,82 g/l, 48 jam sebesar 1,08 g/l, 72 jam sebesar 0,86 g/l, dan 96 jam sebesar 0,72 g/l. Sedangkan kadar hidrogen peroksida pada waktu inkubasi 24 jam sebesar 0,014 g/l, 48 jam sebesar 0,023 g/l, 72 jam sebesar 0,016 g/l, dan 96 jam sebesar 0,010 g/l. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar asam laktat dan hidrogen peroksida pada tiap isolat BAL yang telah diinkubasi dengan waktu inkubasi optimum. Sehingga didapatkan pula isolat BAL transmisi ASI dengan produksi senyawa paling optimal pada waktu

inkubasi optimum. Selain itu kultur bebas sel isolat BAL dengan produksi asam laktat dan hidrogen peroksida paling optimal tersebut diuji aktivitas antibakterinya.

Peneliti beranggapan bahwa terdapat perbedaan kadar asam laktat dan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh isolat BAL transmisi ASI yang telah diinkubasi dengan waktu inkubasi optimum yaitu 48 jam. Peneliti juga beranggapan bahwa kultur bebas sel isolat BAL dari ASI memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri tersebut dipilih karena mewakili kelompok bakteri Gram positif dan negatif. Selain itu kedua bakteri tersebut merupakan bakteri patogen yang biasa berada di dalam saluran pencernaan, saluran kemih, dan vagina. Menurut hasil penelitian Mobolaji & Wuraola (2011), bakteri patogen yang dapat dihambat oleh bakteri asam laktat meliputi bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *Serratia spp.*, *Salmonella spp.*, *P. syringae*, *P. mirabilis* dan *K. pneumonia*.

Penghambatan bakteri patogen oleh bakteri asam laktat membuat kondisi mikroflora tubuh manusia menjadi seimbang (Grimoud *et al.*, 2010). Allah SWT berfirman dalam surat Al Mulk (67) ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طَبَاقًا مَا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِنْ تَقْوِيتٍ فَارْجِعُ الْبَصَرَ هُنَّ تَرَى مِنْ فُطُورٍ

Terjemah (Kemenag, 2002); Yang menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Tidak akan kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pengasih. Maka lihatlah sekali lagi, adakah kamu lihat sesuatu yang cacat?

Ayat di atas terdapat lafadz “*maa taraa fii kholqi rahmani min tafaawut*”. Tafsir Al-Mishbah oleh M. Quraish Shihab (2002); Yang menciptakan tujuh langit yang serasi dan akurat. Kamu tak melihat sesuatu yang tidak seimbang pada ciptaan Allah, Tuhan yang rahmat-Nya mencakup seluruh wujud baik pada ciptaan-Nya yang kecil maupun yang besar. Maka ulangilah pandangan itu berkali-kali, niscaya tidak akan kau menemukan kecacatan. Allah menciptakan bakteri patogen dalam tubuh manusia, Allah menciptakan pula bakteri asam laktat sehingga terbentuk kondisi

mikroflora yang seimbang dalam tubuh manusia. Kondisi mikroflora yang seimbang menjadikan kesehatan yang terjaga pula pada makhluk hidup.

Antibakteri telah berperan penting dalam mengurangi tingkat kematian manusia akibat infeksi bakteri. Namun setelah penggunaan antibakteri untuk penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen, dilaporkan adanya resistensi bakteri patogen terhadap antibakteri (Fedorenko *et al.*, 2015). Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia, terutama di negara berpenghasilan rendah hingga menengah (Devasahayam *et al.*, 2010). Permasalahan tersebut menjadi alasan pentingnya dilakukan penelitian ini untuk menemukan dan mengembangkan sumber antibakteri baru terutama yang bersumber dari makhluk hidup.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah;

1. Apakah terdapat perbedaan kadar senyawa asam laktat yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar senyawa hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat?
3. Apakah kultur bebas sel isolat bakteri asam laktat memiliki aktivitas antibakteri?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan penelitian ini adalah;

1. Mengetahui adanya perbedaan kadar senyawa asam laktat yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat.
2. Mengetahui adanya perbedaan kadar senyawa hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat.
3. Mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari kultur bebas sel isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen.

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis penelitian ini adalah;

1. Terdapat perbedaan kadar senyawa asam laktat yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat.
2. Terdapat perbedaan kadar senyawa hidrogen peroksid yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat
3. Terdapat aktivitas antibakteri dari kultur bebas sel isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini bermanfaat sebagai landasan teoritis mengenai kadar asam laktat dan hidrogen peroksid dalam pengembangan ilmu pengetahuan
2. Menjadi pertimbangan bagi klinisi untuk penelitian selanjutnya sebagai penggunaan sumber antibakteri baru.
3. Penelitian ini dapat memberikan informasi pada masyarakat mengenai aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat.
4. Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri dapat menjadi sumber antibakteri baru, khususnya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Echericia coli*.

#### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah penelitian ini adalah:

1. Isolat bakteri asam laktat diremajakan dari isolat yang diperoleh dari transmisi sampel air susu ibu dengan usia 20-30 tahun dan usia bayi 1-6 bulan pada penelitian sebelumnya.
2. Bakteri patogen penguji adalah bakteri spesies *Staphylococcus aureus* dan *Echericia coli* yang didapat dari stok Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3. Pengukuran kadar senyawa asam laktat dan hidrogen peroksida menggunakan metode titrasi. Pengukuran kadar senyawa asam laktat berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mobolaji & Wuraola (2011), sedangkan pengukuran kadar senyawa hidrogen peroksida berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rocío Martín *et al.*, (2005). Perhitungan kuantitasnya menggunakan metode A.O.A.C (1980) berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wakil & Osamwonyi (2011).
4. Aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cawan agar (Ndaw *et al.*, 2008).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Bakteri Asam Laktat

##### 2.1.1 Klasifikasi dan Habitat

Kelompok bakteri asam laktat (BAL) dalam sistem klasifikasi berada di dalam dua filum. Filum dengan spesies BAL terbesar adalah *Firmicutes* yang terdiri dari 6 famili dan semuanya masuk dalam ordo *Lactobacillales*, dan kelas *Bacilli*. Famili *Aerococcaceae* terdiri dari genus *Abiotropia*, *Aerococcus*, *Facklamia*, *Dulosicoccus*, *Eremococcus*, *Globicatella*, dan *Ignavignarum*. Famili *Carnobactericeae* terdiri dari genus *Carnobacterium*, *Marinilactibacillus*, *Trichococcus*, *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Bavaricoccus*, *Desemzia*, *Dolosignarum*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, dan *Lacticigenium*. Famili *Enterococcaceae* terdiri dari genus *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Catellicoccus*, *Melissococcus*, dan *Pilibacter*. Famili *Lactobacillaceae* terdiri dari genus *Lactobacillus*, *Paralactobacillus*, dan *Pediococcus*. Famili *Leuconostocaceae* terdiri dari genus *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, dan *Lactococcus*. Famili *Streptococcaceae* terdiri dari genus *Lactovum* dan *Streptococcus* (Holzapfel & Wood, 2014).

Filum yang kedua adalah *Actinobacterium* yang beranggotakan famili *Bifidobacteriaceae*, terdiri dari genus *Bifidobacterium*, *Aeriscardovia*, *Metascardovia*, *Alloscardovia*, *Gardnerella*, *Parascardovia*, dan *Scardovia*. Famili ini berada dalam ordo *Bifidobacteriales* dan kelas *Actinobacteria* (Fernanda *et al.*, 2016). Menurut Agriopoulou *et al.* (2020), genus *Lactobacillus* dari filum Firmicutes telah mengalami reklassifikasi dan membentuk 25 genus baru yang terdiri dari 261 spesies tercatat pada bulan Maret 2020. Dua puluh lima genus tersebut antara lain adalah *Lactobacillus delbrueckii* group, *Paralactobacillus*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Holzapfelia*,

*Loigolactobacillus*, *Dellaglioa*, *Liquorilactobacillus*, *Secundilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, dan *Lentilactobacillus*.

Bakteri asam laktat ditemukan pada lingkungan yang kaya akan nutrisi, dan secara alami terdapat pada berbagai produk makanan seperti susu, produk daging, dan sayuran (Schnürer & Magnusson, 2005). Bakteri asam laktat dalam tubuh manusia ditemukan pada saluran gastrointestinal, saluran kemih, dan saluran vagina. Keberadaan BAL berfungsi untuk berkompetisi dengan mikroba patogen yang terdapat pada organ tersebut (Pasolli *et al.*, 2020; Silvester & Dicks, 2003; Corr *et al*, 2009).

### 2.1.2 Deskripsi

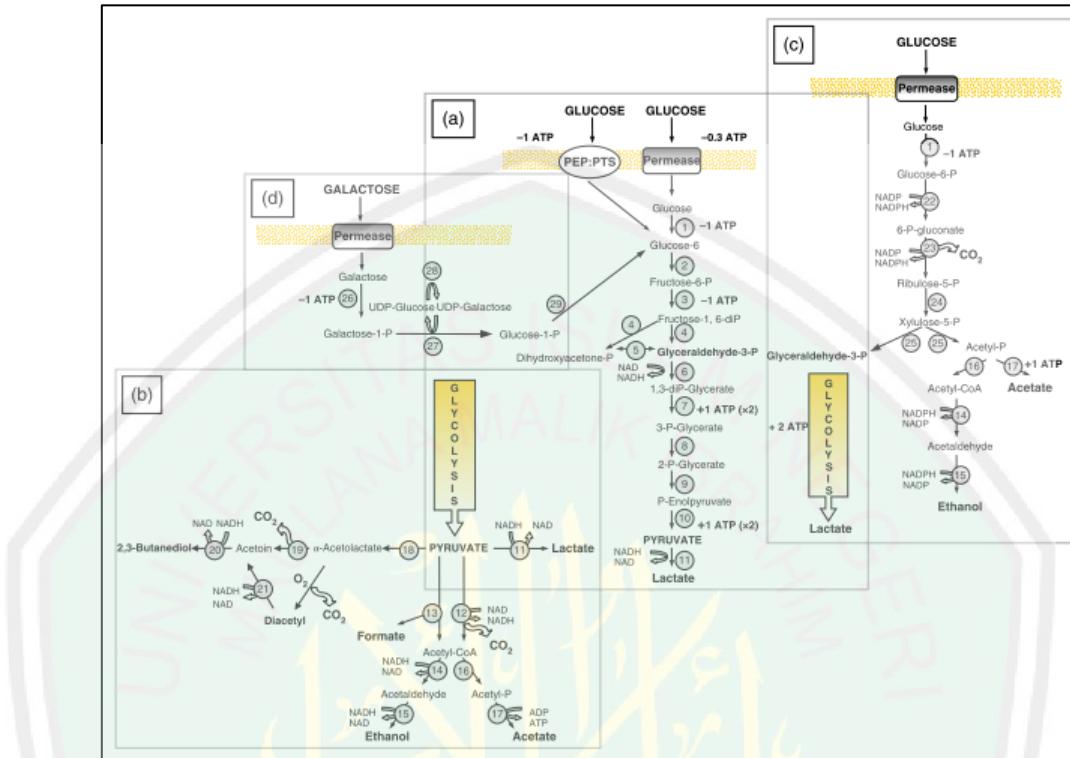
Bakteri asam laktat atau BAL adalah bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, bakteri katalase negatif yang tidak memiliki sitokrom. Berdasarkan kebutuhan akan oksigen BAL merupakan bakteri non-aerob, tetapi masih toleran terhadap kondisi aerob. BAL memiliki toleransi terhadap asam, dan bersifat fermentatif ketat. Asam laktat adalah produk akhir utama yang dihasilkan dari fermentasi gula (Šušković *et al.*, 2010). Bentuk sel BAL adalah bulat (*cocci*) dan batang (*bacil*) (Ali, 2011). Morfologi koloni bakteri asam laktat secara makroskopis bentuknya sirkular, elevasi cembung, dan tepi rata. Warna koloni kekuningan dan putih. Diameter koloninya 0,5-1 mm (Zakariah *et al.*, 2019). BAL adalah bakteri pengurai gula menjadi asam laktat melalui proses fermentasi (Mustika dkk., 2019).

Bakteri asam laktat telah lama digunakan sebagai kultur starter untuk meningkatkan pengawetan, rasa, dan tekstur makanan fermentasi dan produk pakan. Hal ini karena kemampuannya untuk memfermentasi gula, peningkatan keasaman, dan produksi beberapa metabolit sekunder (Kleerebezem *et al.*, 2017). Selain itu BAL juga dimanfaatkan untuk meningkatkan nilai gizi makanan yang difermentasi,

contohnya yogurt yang mendapatkan folat dan riboflavin sebagai zat esensial yang dihasilkan BAL (Arena *et al.*, 2018). BAL dapat menjadi probiotik untuk saluran pencernaan. Probiotik adalah mikroorganisme yang jika dikonsumsi dalam keadaan hidup dan dengan jumlah yang cukup akan memberikan manfaat kesehatan (Nuraida dkk., 2011).

### 2.1.3 Metabolisme Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat membutuhkan nutrisi yang kompleks untuk pertumbuhannya, diantaranya adalah karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral. Secara garis besar metabolisme BAL berdasarkan substratnya yaitu; metabolisme gula, metabolisme sitrat, dan metabolisme protein. Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat bermacam-macam, diantaranya adalah asam organik (laktat, sitrat, asetat, fumarat, dan malat), hidrogen peroksida, CO<sub>2</sub>, diasetil, etanol, reuterin, asetaldehid, asetoin, dan ammonia (Agriopoulou *et al.*, 2020). Metabolisme gula mengarah pada pembentukan asam laktat saja atau kombinasi asam laktat dengan etanol atau senyawa asam organik lain. Variasi produk metabolisme BAL membentuk tiga kategori fermentasi. Yaitu Homofermentatif, Heterofermentatif, dan metabolisme asam campuran (Gambar 2.1). Homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat, heterofermentatif menghasilkan asam laktat bersama dengan etanol, sedangkan metabolisme asam campuran menghasilkan asam laktat, etanol, dan asam organik lain (Settanni & Moschetti, 2010).

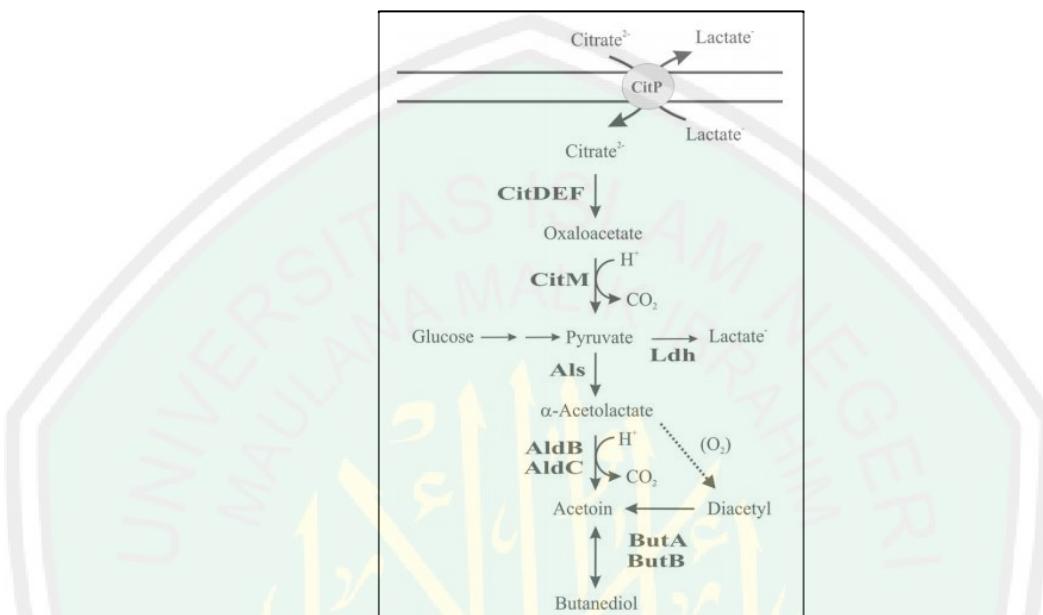


Gambar 2. 1 Pathway metabolisme gula oleh bakteri asam laktat (Fernanda *et al.*, 2016).

Keterangan; (a = homofermentatif, b= metabolisme asam campuran, c = heterofermentatif, d = Leloir pathway)

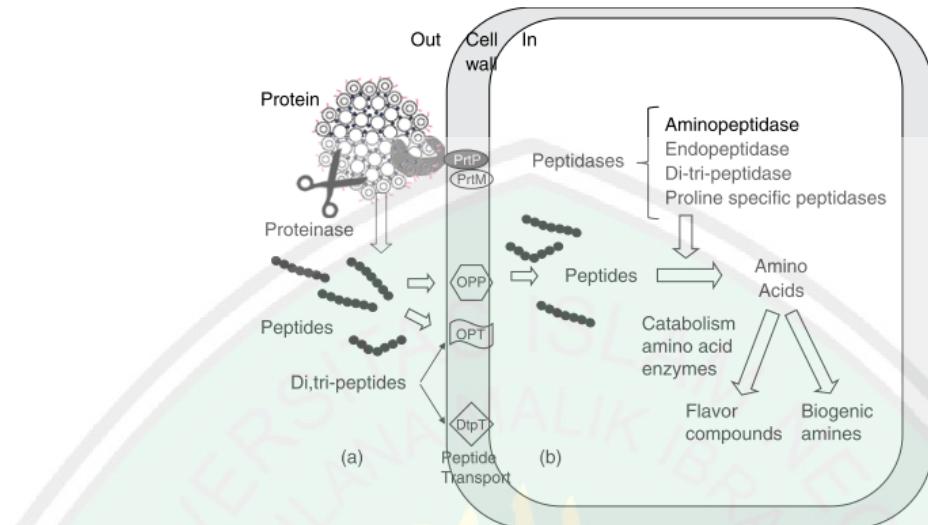
Selain memetabolisme gula sebagai substrat, BAL juga dapat memetabolisme substrat sitrat. Metabolisme ini menghasilkan senyawa volatil seperti diasetil, asetoin, asam asetat, dan butanediol (García-Quintáns *et al.*, 2008). Transport sitrat diangkut ke dalam sel oleh sitrat atau malat permease yang dikodekan oleh *CitP* atau *CitM*. Sitrat di dalam sitosol didegradasi menjadi asetat dan oksaloasetat oleh sitrat liase yang terdiri dari tiga subunit, subunit a, b, c, yang dikodekan dengan *CitD*, *CitE*, dan *CitF* (Pretorius *et al.*, 2019). Transport sitrat diangkut ke dalam sel oleh sitrat atau malat permease yang dikodekan oleh *CitP* atau *CitM*. Sitrat di dalam sitosol didegradasi menjadi asetat dan oksaloasetat oleh sitrat liase yang terdiri dari tiga subunit, subunit a, b, c, yang dikodekan dengan *CitD*, *CitE*, dan *CitF* (García-

Quintáns *et al.*, 2008). Kemudian prekursor  $\alpha$ -asetolaktat membentuk diasetil melalui dekarboksilasi dengan adanya oksigen (Verhue & Tjan, 1991).



Gambar 2. 2 Pathway metabolisme sitrat oleh bakteri asam laktat (García-Quintáns *et al.*, 2008)

Metabolisme protein dimulai dengan proses degradasi protein di luar sel oleh *cell envelope proteinase* (CEP) yang ditambatkan di dinding sel menjadi oligopeptida. CEP dikodekan menjadi PrtP, PrtB, PrtS, dan PrtH. Aktivasi CEP memerlukan *maturity proteinase* (PrtM). Tahap kedua adalah pengangkutan oligopeptida, dipeptida, dan tripeptida oleh oligo-, di-, dan tri-peptide transport system (Opp, Dpp, dan DtpT). Selanjutnya adalah proses peptidase. Proses ini menghidrolisis peptida dan pelepasan asam amino esensial. Tahap berikutnya adalah pembentukan asam amino menjadi senyawa perasa dan amina biogenik dengan bantuan enzim katabolisme asam amino (Fernanda *et al.*, 2016).



Gambar 2. 3 Pathway metabolisme protein oleh bakteri asam laktat (Fernanda *et al.*, 2016)

## 2.2 Air Susu Ibu

### 2.2.1 Deskripsi Umum

Air Susu Ibu (ASI) adalah emulsi lemak dalam larutan laktosa, protein, dan garam organik yang disekresikan oleh kelenjar mammae ibu (Ramadhan & Rahmawati, 2019). Menurut Harianto dkk (2019), ASI adalah susu yang diproduksi oleh ibu untuk dikonsumsi bayi, yang merupakan sumber gizi utama bagi bayi tersebut pada masa pertumbuhannya. ASI adalah makanan bergizi tinggi dan merupakan pendukung awal mikrobiota pencernaan bayi baru lahir. Peran ASI dan mikrobiota tersebut adalah bertindak sebagai mekanisme pertahanan tubuh dalam melawan penyakit (González *et al.*, 2013).

Air susu ibu mengandung semua nutrisi yang diperlukan bayi untuk bertahan hidup dalam enam bulan pertama, mulai dari hormon, antibodi, antioksidan, dan kekebalan tubuh (Tarigan & Aryastami, 2012). ASI dikenal sebagai sistem pendukung imunologis yang penting bagi bayi selama bulan-bulan pertama kehidupan. ASI mengandung eksosom yang berperan dalam fungsi pengaturan kekebalan pada bayi, yaitu fungsi stimulasi dan fungsi toleransi (Admyre *et al.*, 2007).

Air susu ibu mengandung glikoprotein dan N-acetylglucosamin untuk pertumbuhan probiotik sehingga ASI berpotensi sebagai prebiotik (Dewi & Ariyadi, 2007). Prebiotik adalah karbohidrat rantai pendek yang tidak dapat dicerna tapi dapat difermentasikan oleh bakteri pencernaan menjadi asam lemak rantai pendek atau *short chain fat acid* (SCFA). Proses tersebut dinamakan fermentasi saccharolytic dan terjadi dalam saluran pencernaan. Adanya fermentasi ini menyebabkan pH menurun dan menghambat mikroba patogen yang tidak tahan asam, serta mengingkatkan absorpsi mineral (Ridlo & Subagyo, 2013).

## 2.2.2 Kandungan Air Susu Ibu

Air susu ibu penting untuk kesehatan bayi karena mengandung zat-zat penting untuk tubuh seperti karbohidrat (laktosa), protein, lemak, vitamin, dan mineral (Hidayat dkk., 2015). Secara garis besar kandungan nutrien pada ASI dibagi menjadi dua, yaitu makronutrien dan mikronutrien.

### 2.1.2.1 Makronutrien

Makronutrien yang terkandung dalam ASI adalah karbohidrat, protein, dan lemak (Ernawati dkk., 2019). Konsentrasi karbohidrat, protein dan lemak pada ASI berubah secara drastis dalam sekali pemberian dan selama menyusui. Hal ini menyesuaikan dengan kebutuhan bayi (Andreas *et al.*, 2015). Sehingga berdasarkan berbeda konsentrasi kandungan ASI. Menurut Rochow *et al.* (2013), konsentrasi makronutrien rata-rata pada ASI adalah lemak 4,4 gr/100 mL, protein 3 gr/100 mL, dan karbohidrat 8,8 gr/100 mL.

#### a. Karbohidrat

Karbohidrat adalah komponen makronutrien terbesar dalam ASI. Terdapat berbagai macam karbohidrat yang terkandung dalam ASI, secara garis besar terdapat karbohidrat disakarida dan oligosakarida. Karbohidrat terbanyak yang ditemui dalam susu adalah disakarida laktosa yang merupakan gabungan monosakarida glukosa dan galaktosa (Andreas *et al.*, 2015). Kandungan laktosa pada ASI merupakan yang

paling tinggi dibandingkan dengan susu spesies lain, hal ini sesuai dengan kebutuhan energi untuk otak manusia (Coppa *et al.*, 1993).

Oligosakarida ASI atau disebut juga dengan MHO (*human milk oligosaccharides*) disusun oleh 3 sampai 22 unit sakarida dalam satu molekul dan terdiri dari 5 molekul yang berbeda. Monosakarida penyusun oligosakarida adalah L-fucose, D-glukosa, D-galaktosa, N-acetylglucosamine, dan asam N-acetylneuraminic. MHO atau olsakarida dalam ASI memiliki lebih dari 200 variasi berbeda yang keseluruhannya terdapat laktosa di ujungnya sebagai pereduksi. MHO tidak dapat dicerna oleh bayi, namun memiliki peran penting dalam pemeliharaan mikroba pencernaan (German *et al.*, 2008). Sehingga keberadaan MHO sangat penting dalam pencegahan diare dan infeksi saluran nafas pada neonatal atau bayi baru lahir (Newburg & Walker, 2007).

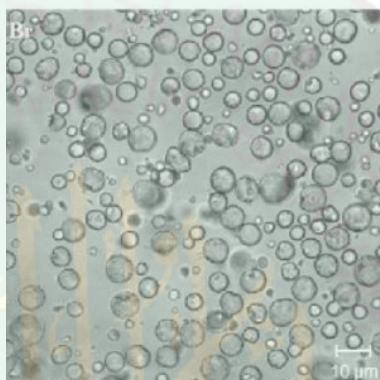
#### b. Protein

Protein yang terkandung dalam ASI sangat bervariasi, terdapat lebih dari 400 jenis protein yang berfungsi memberi nutrisi, merangsang penyerapan nutrisi, imunomodulator, dan sebagai zat antimikroba (Molinari *et al.*, 2012). Protein dalam susu dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu whey, kasein, dan mucins. Whey adalah protein yang terlarut dalam larutan, protein kasein didalam misel kasein dan tersuspensi dalam larutan, sedangkan mucins berada dalam membrane globulin lemak susu (Lönnerdal, 2003). Protein air susu ibu dengan jumlah paling banyak adalah protein whey jenis  $\alpha$ -laktobumin, latoferin, IgS, albumin serum, dan lisozim (Lönnerdal, 2004).

#### c. Lemak

Lemak atau lipid dalam ASI menyumbang 40-55% energi sebagai sumber terbesar, hadir sebagai emulsi lemak. ASI mengandung lebih dari 200 jenis asam lemak. Berbagai jenis asam lemak tersebut sebagian banyak diantaranya berkonsentrasi sangat rendah, sebagian yang lain mendominasi komposisi lemak (Koletzko *et al.*, 2001). Sebagian besar lemak yang disekresikan dalam ASI adalah

triasilglicerol, yaitu sebesar 98% lemak total. Sisanya adalah diasilgiserida, monoasilgiserida, asam lemak bebas, fosfolipid, dan kolesterol. Komponen lemak tersebut membentuk gumpalan lemak susu dengan fosfolipid yang membentuk membran gumpalan. Triasilglicerol biasanya ditemukan di inti gumpalan lemak. Ukuran gumpalan berkisar  $1\mu\text{m}$  sampai  $10\mu\text{m}$  dengan rata-rata diameter  $4\mu\text{m}$  (Lopez & Ménard, 2011).



Gambar 2. 4 Gumpalan lemak pada air susu ibu (Zou *et al.*, 2012)

#### 2.1.2.2 Mikronutrien

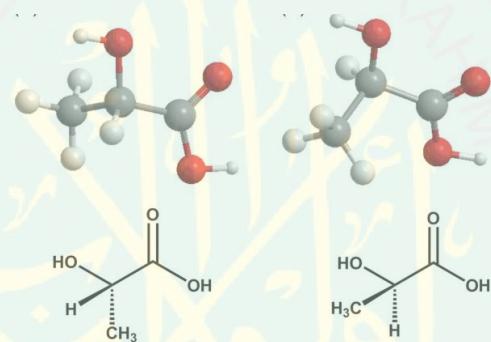
Kandungan mikronutrien pada ASI adalah vitamin dan mineral (Ernawati dkk., 2019). Vitamin yang terkandung dalam ASI meliputi thiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niacin (vitamin B3), cobalamin (vitamin B12), folate (vitamin B9), pantothenic acid (vitamin B5), biotin (vitamin B7), ascorbic acid (vitamin C), vitamin A, vitamin D, vitamin E, dan vitamin K (Hampel *et al.*, 2018).

Mikronutrien mineral dikelompokkan menjadi dua, yaitu makromineral dan mikromineral. Makromineral yang terdapat pada ASI meliputi sodium, potassium, klorida, kalsium, magnesium, fosfor, dan fosfat. Sedangkan mikromineral adalah trance element atau elemen jejak. Trance element sendiri adalah substansi yang membentuk kurang dari 0,01% tubuh. Contoh mikromineral yang ditemukan pada air susu ibu adalah molydenum, cobalt, chromium, dan nikle. Pada ibu perokok aktif dapat ditemukan pula cadmium dalam air susunya (Martín *et al.*, 2006).

## 2.3 Asam Laktat

### 2.3.1 Deskripsi Asam Laktat

Asam laktat atau disebut juga asam susu (Nama IUPAC: 2-asam hidroksipropionat) memiliki rumus kimia  $C_3H_6O_3$ . Asam laktat adalah asam organik multifungsi yang sering digunakan dalam dunia industri. Asam laktat komersial dapat diproduksi secara sintesis maupun alami. Delapan puluh persen industri di seluruh dunia membuat asam laktat secara alami melalui proses fermentasi bakteri. Asam laktat di alam terdapat dua jenis isomer optik, yaitu D(-) lactic acid dan L(+) lactic acid (Jin *et al.*, 2005).



Gambar 2. 5 Struktur molekul asam laktat (Axelsson *et al.*, 2012).

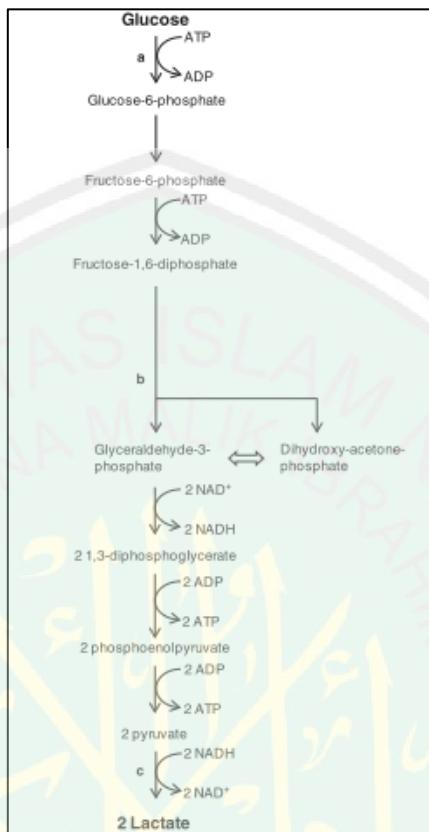
Asam laktat banyak dimanfaatkan di bidang pangan sebagai pengatur keasaman, peningkatan aroma, dan pengawetan makanan karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Selain bidang pangan, senyawa ini juga digunakan di bidang farmasi dan kosmetik (Jin *et al.*, 2005).

### 2.3.2 Biosintesis Asam Laktat oleh Bakteri Asam Laktat

Mikroorganisme yang paling umum digunakan untuk memproduksi asam laktat adalah bakteri asam laktat (BAL) (Ghaffar *et al.*, 2014). BAL dapat memproduksi asam laktat dari substrat gula pentosa ( $C_5H_{10}O_5$ ) maupun gula heksosa ( $C_6H_{12}O_6$ ). Gula pentosa meliputi arabinosa, xylosa, ribose, dan ribulosa, sedangkan gula heksosa meliputi glukosa, galaktosa, manosa, dan fruktosa (Rahman *et al.*,

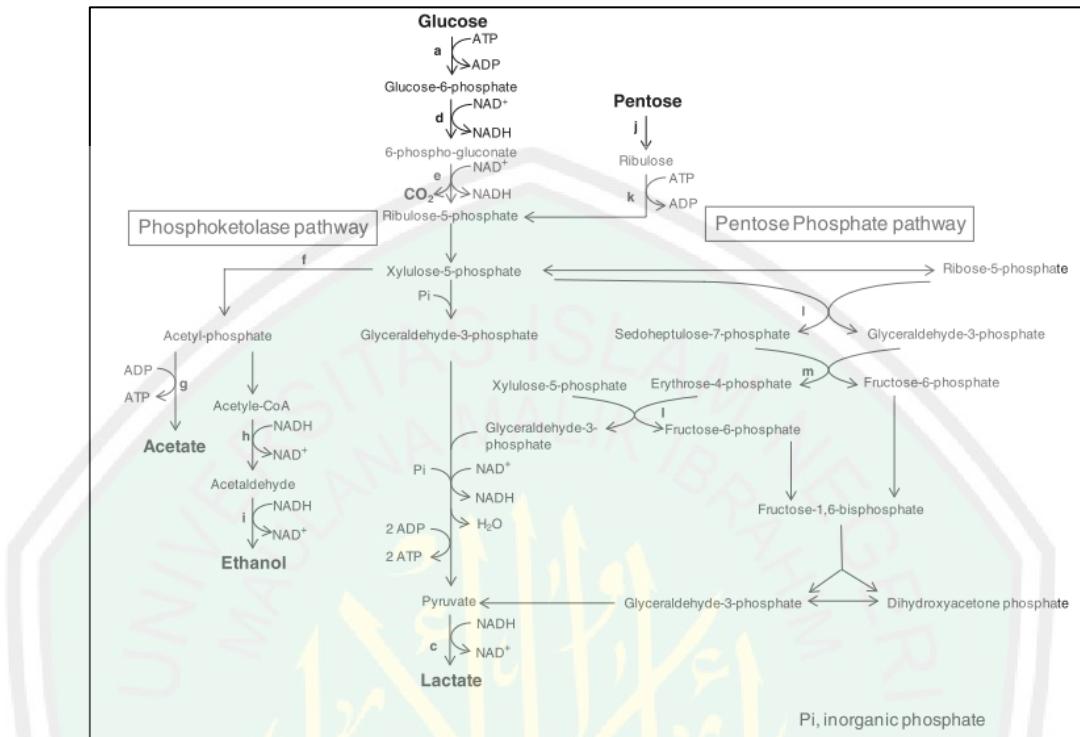
2011). Namun sebagian besar strain BAL tidak dapat menghasilkan asam laktat yang berasal dari gula pentosa (Zhang *et al.*, 2018).

Asam laktat diproduksi oleh BAL melalui metabolisme homofermentatif maupun heterofermentatif (Settanni & Moschetti, 2010). Metabolisme homofermentatif oleh BAL menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama. Hasil maksimal teoritis asam laktat adalah dua mol asam laktat per mol glukosa (Taskila & Ojamo, 2013). BAL homofermentatif (Homo-LAB) memetabolisme heksosa menjadi asam piruvat melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), kemudian asam piruvat digunakan untuk meregenerasi NAD<sup>+</sup> dalam reaksi katalis laktat dehydrogenase (LDH) dan menghasilkan asam laktat. Ada dua jenis LDH yaitu L-LDH yang bertanggung jawab mengakatalisis pembentukan L- asam laktat dan D-LDH yang bertanggung jawab mengkatalisis pembentukan D-asam laktat (Zhang *et al.*, 2018).



Gambar 2. 6 Pathway biosintesis asam laktat oleh bakteri asam laktat homofermentatif jalur EMP (Holzapfel & Wood, 2014).

Bakteri asam laktat heterofermentatif (Hetero-LAB) menghasilkan asam laktat menggunakan gula pentosa dan heksosa melalui jalur phosphoketolase (PK) (Zaunmüller *et al.*, 2006). Hasil maksimal teoritis adalah satu mol asam laktat per mol heksosa atau satu mol asam laktat per satu mol pentosa. Hetero-LAB menghasilkan produk samping asam asetat, etanol, atau beberapa propiol. BAL heterofermentatif fakultatif memetabolisme melalui jalur EMP, namun juga memiliki jalur PK jika diinduksi dengan pentosa (Zhang *et al.*, 2018).



Gambar 2. 7 Pathway biosintesis asam laktat oleh bakteri asam laktat heterofermentatif jalur PK (Holzapfel & Wood, 2014).

## 2.4 Hidrogen Peroksida

### 2.4.1 Deskripsi Hidrogen Peroksida

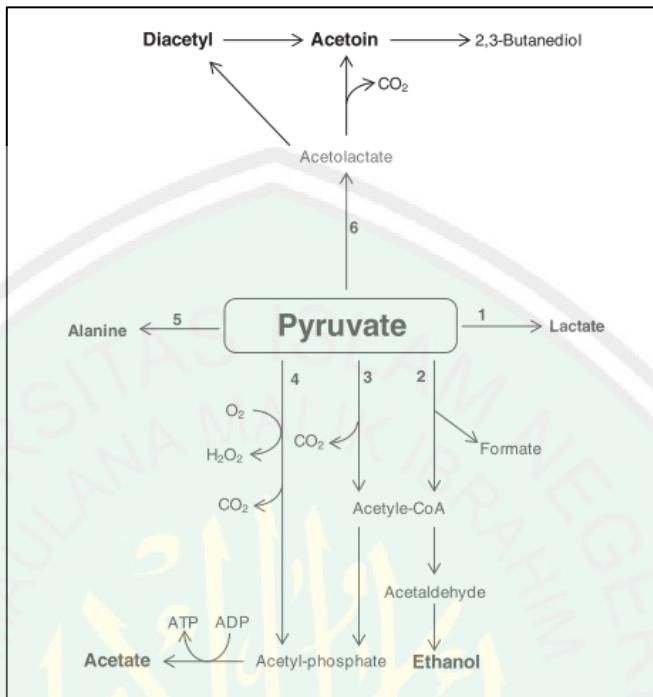
Hidrogen peroksida adalah oksidan kuat dan dapat membentuk radikal bebas dengan pembelahan homolitik. Hidrogen peroksida dapat mengalami banyak reaksi seperti penambahan molekul, substitusi, oksidasi, dan reduksi (Chambers *et al.*, 2007). Hidrogen peroksida merupakan senyawa kimia dengan rumus molekul  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Senyawa ini berwarna biru pucat yang khas dalam bentuk cair murni. Namun dalam bentuk larutan dan pada suhu ruang hidrogen peroksida menjadi tidak berwarna dan berbau sedikit lebih tajam. Larutan hidrogen peroksida merupakan asam lemah dan tidak sepenuhnya terionisasi dalam air. Viskositasnya sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan air (Pędziwiatr *et al.*, 2018).

Hidrogen peroksida memiliki struktur molekul yang unik. Senyawa dengan ikatan oksigen-oksigen tunggal dikategorikan dalam gugus peroksida. Hidrogen peroksida merupakan tipe paling sederhana dalam gugus kimia tersebut. Hidrogen peroksida merupakan agen oksidasi kuat karena struktur kimianya dan tidak berpasangan elektron (Wexler *et al.*, 2014).

#### 2.4.2 Biosintesis Hidrogen Peroksida oleh Bakteri Asam Laktat

Hidrogen peroksida diproduksi oleh bakteri asam laktat melalui proses piruvat oksidasi (Winterbourn, 2013). Piruvat adalah perantara dari hampir semua jalur fermentasi gula dan umumnya direduksi menjadi asam laktat. Sintesis hidrogen peroksida merupakan bagian dari metabolisme piruvat. Metabolisme piruvat dibagi menjadi empat jalur utama; jalur diasetil-asetoin, piruvat format lyase, dehydrogenase piruvat, dan jalur oksidasi piruvat (Holzapfel & Wood, 2014). Produksi hidrogen peroksida melibatkan gen spxB. spxB adalah dekarboksilase yang mengkatalisis konversi piruvat, fosfat anorganik (Pi) dan oksigen molekuler ( $O_2$ ) menjadi hidrogen peroksida, karbon dioksida ( $CO_2$ ), dan asetil fosfat yang bertindak sebagai donor gugus fosfori berenergi tinggi.





Gambar 2. 8 Pathway alternatif metabolisme piruvat (Holzapfel & Wood, 2014).

Hidrogen peroksida juga dapat diproduksi melalui proses oksidasi NADH menjadi  $\text{NAD}^+$ . Proses ini termasuk dalam metabolisme aseptor elektron berupa oksigen. Ada dua tipe oksidasi NADH. Tipe yang pertama menghasilkan hidrogen peroksida dengan 1 NADH dan 1  $\text{H}^+$  yang dioksidasi. Sedangkan tipe kedua dengan 2 NADH dan 2  $\text{H}^+$  dioksidasi membentuk  $\text{NAD}^+$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  (bukan  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Beberapa LAB memiliki kedua tipe NADH oksidase tersebut (Holzapfel & Wood, 2014).

## 2.5 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Antibakteri dibagi menjadi dua jenis, yaitu antibakteri yang dapat membunuh bakteri target (bakterisidal) dan bakteri yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri target (bakteriostatik). Zat antibakteri harus bersifat toksik terhadap parasit namun tidak berbahaya terhadap inang atau yang disebut dengan sifat toksitas selektif. Antibakteri berdasarkan aktivitas penghambatannya terbagi menjadi dua kelompok, yaitu *narrow spectrum* yang dapat menghambat bakteri Gram

positif saja atau bakteri Gram negatif saja dan *broad spectrum* yang dapat menghambat bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif (Talaro & Barry, 2014). Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik Gram positif maupun Gram negatif (Wakil & Osamwonyi, 2011).

Aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat disebabkan karena adanya produksi asam organik, diasetil, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang merupakan protein bakterisidal selama fermentasi (Savadogo *et al.*, 2004). Sedangkan menurut Cizekiene *et al.* (2013) pengaruh antibakteri oleh bakteri asam laktat disebabkan adanya produksi asam laktat, asam asetat, asam propionik, asam sorbik, asam benzoit, hidrogen peroksida, diasetil, etanol, asam fenolik, dan senyawa protein lain yang berpotensi sebagai antibakteri.

## 2.6 Mekanisme Aktivitas Antibakteri

### 2.6.1 Mekanisme Aktivitas Antibakteri Asam Laktat

Asam laktat yang diproduksi bakteri asam laktat memiliki aktivitas antibakteri dengan dua mekanisme penghambatan. Mekanisme penghambatan yang pertama adalah, asam yang lebih bersifat hidrofobik berdifusi ke dalam membran sel. Asam tersebut berdisosiasi di dalam membran sel dan melepaskan ion HC sehingga kondisi sitoplasma menjadi asam. Selain mekanisme penurunan pH, asam laktat yang tidak terdisosiasi menghancurkan gradien proton elektrokimia, menyebabkan bakteriostatis dan akhirnya kematian bakteri (Schnürer & Magnusson, 2005).

### 2.6.2 Mekanisme Aktivitas Antibakteri Hidrogen Peroksida

Hidrogen peroksida memiliki aktivitas antibakteri dengan membentuk radikal hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ).  $\text{OH}\cdot$  yang merupakan oksidan kuat dapat bereaksi dengan makromolekul sel seperti DNA dan lipid dalam membran sel (Feuerstein *et al.*, 2006). Radikal hidroksil adalah radikal oksigen paling reaktif dan bereaksi sangat cepat dengan hampir semua jenis molekul yang ditemukan dalam sel makhluk hidup

(Meghana *et al.*, 2013). Reaksi pembentukan OH• merupakan reaksi neutralisasi yang dapat terbentuk apabila terdapat enzim katalase (Kwakman & Zaai, 2012).

Enzim katalase tidak dimiliki oleh bakteri asam laktat. Namun dalam keadaan alami senyawa hidrogen peroksida dapat memiliki aktivitas antibakteri karena adanya laktoperoksidase dan tiosianat (SCN<sup>-</sup>). Glikoprotein laktoperoksidase bisa ditemukan dalam saliva, air mata, dan susu. Laktoperoksidase mengkatalis oksidasi dari tiosianat terhadap hidrogen peroksida menghasilkan hipotianit (OSCN<sup>-</sup>) dan apabila ada kelebihan hidrogen peroksida menghasilkan O<sub>2</sub>SCN<sup>-</sup> dan O<sub>3</sub>SCN<sup>-</sup>.

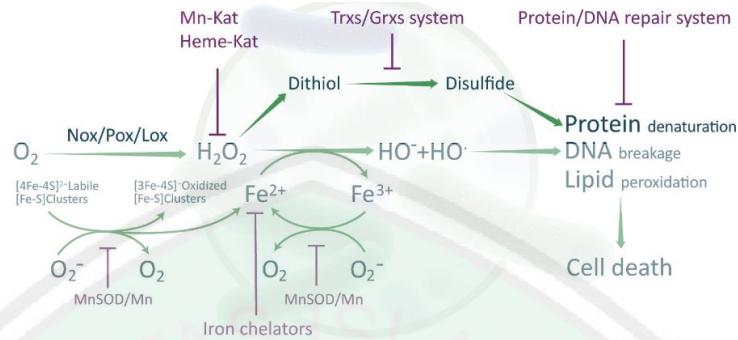


Keberadaan hipotianit menyebabkan kerusakan dan perubahan struktur membran bakteri. Namun efek antimikroba hipotianit yang utama adalah adanya pemblokiran glikolisis. Hipotianit dapat menghambat transport glukosa, aktivitas heksokinasi, dan aktivitas gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenasi. Hal ini dapat menyebabkan bakteriostatis pada bakteri Gram positif dan bakterisidal pada bakteri Gram negatif (Salminen *et al.*, 2004). Transport glukosa, aktivitas heksokinasi, dan aktivitas gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenasi terhambat karena adanya oksidasi gugus sulfidril dalam enzim metabolismik (Dicks & Botes, 2010).

Pembentukan OH• dapat pula terjadi ketika hidrogen peroksida bertemu dengan Fe bebas melalui reaksi fenton.



Organisme tingkat tinggi telah mengembangkan mekanisme untuk menangkap transisi ion logam Fe menjadi bentuk terikat protein, sehingga tidak dapat membentuk OH• dan radikal bebas lainnya (Halliwell *et al.*, 2000).



Gambar 2. 9 Mekanisme aktivitas antibakteri hidrogen peroksida (Feng & Wang, 2020).

## 2.7 Titrasi

Titrasi adalah metode yang berdasarkan pada kombinasi stoikiometri koloid ion positif dan negatif. Ion koloid positif dititrasikan secara langsung dengan ion koloid negatif. Normalitas larutan titer ditentukan dengan jumlah ekivalen dari gugus polimer yang dapat dipisahkan dalam satu liter larutan. Titik akhir titrasi biasanya ditentukan dengan perubahan warna suatu zat indikator. Namun pada beberapa jenis titrasi yang metakromasinya kurang lebih tidak dapat ditentukan, biasanya titik akhir ditentukan dengan adanya pengendapan reaktan secara tiba-tiba (Terayama, 1952).

### 2.7.1 Titrasi Asam Basa

Titrasi asam basa adalah titrasi untuk menentukan kadar asam dalam larutan basa sebagai titran. Titik akhir dari titrasi jenis ini adalah kesetimbangan pH yang ditunjukkan dengan perbedaan warna oleh indikator. Jenis-jenis indikator yang digunakan dalam titrasi asam basa dan indikasi warnanya adalah sebagai berikut (Greenfield & Clift, 1975):

Tabel 2. 1 Indikator yang digunakan dalam titrasi asam basa

Indikator	Warna asam	Warna basa	Rentang pH
Cresol red	merah	kuning	0,2-1,8
Thymol blue	merah	kuning	1,2-2,8
Bromophenol blue	kuning	biru	3,0-4,6
Methyl orange	merah	kuning	3,1-4,4

Congo red	biru	merah	3,0-5,0
Bromocresol green	kuning	biru	3,8-5,4
Methyl red	merah	kuning	4,2-6,3
Bromocresol purple	kuning	ungu	5,2-6,8
Litmus	merah	biru	5,0-8,0
Bromo-thymol blue	kuning	biru	6,0-7,6
Phenol red	kuning	biru	6,8-8,4
Cresol red	kuning	merah	7,2-8,8
Thymol blue	kuning	merah	8,0-9,6
Phenolphthalein	Tidak berwarna	merah	8,3-10,0
Alizarin Yellow R	kuning	Jingga-merah	10,1-12,0

### 2.7.2 Titrasi Redoks

Titran berperan sebagai agen oksidasi atau agen reduksi dalam titrasi redoks. Titran yang digunakan sebagai oksidator antara lain adalah;  $\text{MnO}_4^-$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ , dan  $\text{I}_2$ . Titran yang digunakan sebagai reduktor antara lain adalah;  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ . Titran yang bertindak sebagai oksidator melepaskan atom oksigen yang akan diterima oleh substrat sebagai reduktor atau menerima elektron dari substrat, begitupun sebaliknya pada titran yang bertindak sebagai reduktor. Penentuan kadar hidrogen peroksida dapat dilakukan menggunakan titrasi redoks jenis permanganometri. Titrasi ini menggunakan potassium permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) sebagai titran oksidator. Potassium permanganat berwarna ungu karena adanya permanganat ( $\text{MnO}_4^-$ ). Ketika titran melepaskan atom oksigen (harus dalam kondisi asam) maka titran akan berubah menjadi  $\text{Mn}^{2+}$  dan  $\text{O}_2$  yang kehilangan warna ungunya. Sehingga pada reaksi ini tidak diperlukan indikator karena titik akhir dari titrasi dapat ditentukan dengan potassium permanganat yang sudah tidak berwarna bening ketika hidrogen peroksida sudah habis (Greenfield & Clift, 1975).

Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) merupakan oksidator kuat, dalam reaksi titrasi permanganometri juga bertindak sebagai oksidator karena melepaskan atom oksigen. Namun setelah itu mengikat oksigen dari permanganat dan membentuk air. Berikut reaksi pada ritrasi hidrogen peroksida menggunakan potassium permanganat.



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini melakukan tiga percobaan. Percobaan pertama dan kedua adalah pengukuran kadar asam laktat dan hidrogen peroksida dengan 9 perlakuan (kontrol, isolat bakteri asam laktat dengan kode  $B_1A10^{-4}$ mid,  $B_5C10^{-3}$ mid,  $C_4A10^{-4}$ up,  $C_1B10^{-3}$ mid,  $E_3A10^{-3}$ mid,  $E_3B10^{-4}$ mid,  $F_4A10^{-3}$ mid, dan  $F_4B10^{-3}$ up) dan 3 kali ulangan. Percobaan ketiga adalah pengujian aktivitas antibakteri dengan 6 perlakuan (kontrol (+) terhadap *Staphylococcus aureus*, kontrol (+) terhadap *Escherichia coli*, kontrol (-) terhadap *Staphylococcus aureus*, kontrol (-) terhadap *Escherichia coli*, isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus*, dan isolat BAL terhadap *Escherichia coli*). Semua perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

#### 3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kontrol. Variabel bebas yaitu jenis isolat bakteri asam laktat dan bakteri penguji. Variabel terikat yaitu kadar asam laktat, kadar hidrogen peroksida, dan aktivitas antibakteri. Variabel kontrol adalah jenis media, suhu dan waktu inkubasi, dan kecepatan *shaker*.

#### 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Desember 2020. Pengukuran kadar senyawa antibakteri dari bakteri asam laktat dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Adapun pengujian aktivitas antibakteri bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung appendorf, cawan petri, *Laminar Air Flow, shaker incubator, autoclave, bunsen, Erlenmeyer, hot plate, tube 15 mL, pipet tetes, mikropipet, blue tip, yellow tip, vortex, sentrifugator, titrimeter, neraca analitik dan jangka sorong digital.*

#### **3.4.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat, bakteri *Staphlococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, media MRS agar (*de Man, Rogosa, Sharpe agar*), MRS borth (*de Man, Rogosa, Sharpe borth*), MHA (*Muller Hinton Agar*), NA (*Nutrient Agar*) dan media NB (*Nutrient Borth*), phenolphthalein, NaOH 1 N, Kalium permanganat 0,1 N, Asam sulfat 0,1 M, antibakteri kloramfenikol, dan aquades steril.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dilakukan dengan membungkus alat dengan kertas dan dimasukkan ke dalam kantong plastik. Sterilisasi bahan media MRS agar, MRS broth, NA, NB, dan MHA dilakukan dalam wadah botol dan ditutup kapas dan kasa pada mulut botol, kemudian dimasukkan dalam plastik. Sterilisasi bahan cairan seperti aquades, NaCl dilakukan dalam wadah botol dan ditutup aluminium foil pada mulut botol, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Alat dan bahan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### **3.5.2 Pembuatan Media**

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *de Man Rogosa Sharpe agar* (MRS agar), *de Man Rogosa Sharpe broth* (MRS broth), *Nutrient agar*

(NA), dan *Muller Hinton Agar* (MHA). Berikut prosedur pembuatan masing-masing media.

#### 3.5.2.1 *de Man Rogosa Sharpe agar* (MRS agar)

Media MRS agar digunakan untuk isolasi, seleksi, dan purifikasi bakteri asam laktat pada air susu ibu. Pembuatan media MRS agar dilakukan dengan menghomogenkan 62 g media dalam 1000 mL aquades. Media yang sudah dihomogenkan dan dididihkan selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Penggunaan media MRS agar dituangkan dalam cawan petri. Penyimpanan media dapat dilakukan dengan memasukkannya dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2.2 *de Man Rogosa Sharpe broth* (MRS broth)

Media MRS borth digunakan untuk membuat kultur bebas sel bakteri asam laktat dan untuk kultur perhitungan senyawa antibakteri. Pembuatan media MRS borth dilakukan dengan menghomogenkan 52,2 g media dalam 1000 mL aquades. Media kemudian dididihkan dengan menggunakan hotplate. Setelah media mendidih dan homogen, selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Penyimpanan media dapat dilakukan dengan dimasukkan dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2.3 *Nutrient agar* (NA)

Media NA digunakan untuk meremajakan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pembuatan media ini dilakukan dengan cara menghomogenkan 28 g media dalam 1000 mL aquades. Setelah itu media dididihkan menggunakan *hot plate*. Setelah media mendidih dan homogen, media disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Pemakaian media NA dilakukan dengan menuangkannya pada cawan petri, sedangkan penyimpanannya dapat dilakukan dengan dimasukkan dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2.4 *Nutrient borth* (NB)

Media NB digunakan untuk menumbuhkan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebelum digunakan untuk pengujian antibakteri. Media dibuat dengan menghomogenkan 8 g media dalam 1000 mL aquades. Kemudian media dididihkan menggunakan *hot plate* dan disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Pemakaian media NB dilakukan dengan menuangkannya dalam tabung reaksi. Penyimpanan media dapat dilakukan dengan memasukkannya dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2.5 *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Pembuatan media MHA dilakukan dengan cara menghomogenkan 38 g media dalam 1000 mL aquades, setelah itu media dididihkan menggunakan *hot plate*. Selanjutnya media yang sudah homogen dan mendidih disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Pemakaian media MHA dilakukan dengan menuangkannya pada cawan petri. Penyimpanan media dapat dilakukan dengan memasukkannya dalam lemari pendingin.

#### 3.5.3 Peremajaan Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat diremajakan pada media baru MRS agar menggunakan metode cawan gores dengan teknik goresan kuadran. Selanjutnya diinkubasi pada keadaan anaerob pada suhu 37 °C selama 24 jam.

#### 3.5.4 Pembuatan Kultur Bebas Sel

Kultur bebas sel bakteri asam laktat didapatkan dengan cara menginkubasi bakteri asam laktat dalam media MRS borth selama 48 jam di suhu 30 °C. Setelah itu kultur disentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 20 menit pada suhu ruang. Selanjutnya supernatan hasil sentrifugasi dikumpulkan dan menjadi kultur bebas sel.

#### 3.5.5 Pengukuran Kadar Senyawa Asam Laktat dan Hidrogen peroksida

##### 3.5.5.1 Asam Laktat

Kultur bebas sel sebanyak 25 mL dimasukkan dalam tabung erlenmeyer 100 mL, lalu ditambahkan phenolphthalein sebanyak 1 mL (0,5% dari 5% alkohol) sebagai indikator. Campuran dititrasi menggunakan 0,1 M Sodium hidroksida NaOH (Mobilaji *et al.*, 2011). Setiap milliliter NaOH ekuivalen dengan 90,08 mg asam laktat. Asam laktat hasil titrasi dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Wakil & Osamwonyi, 2011);

$$\text{asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times M \text{ NaOH} \times M.E}{\text{Volume sampel}}$$

Rumus 3. 1 Perhitungan kadar senyawa asam laktat

ml NaOH = volume NaOH yang digunakan

M NaOH = molaritas NaOH

M.E = faktor equivalen (90,08/mg)

### 3.5.5.2 Hidrogen Peroksida

Produksi hidrogen peroksida bakteri asam laktat berusia 48 jam ditentukan dengan cara memasukkan 25 ml kultur bebas sel ke dalam tabung 100 ml. Asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ditambahkan sebanyak 25 ml sebagai pembentuk suasana asam. Larutan dititrasi dengan 0,1 N Potassium permanganatan ( $\text{KMnO}_4$ ) sampai titik akhir sampel mengalami penghilangan warna (*decolorization*) (Martín *et al.*, 2005). Faktor ekuivalen  $\text{KMnO}_4$  dan hidrogen peroksida adalah 1,701 mg. Kadar hidrogen peroksida yang diproduksi dihitung menggunakan rumus berikut (Wakil & Osamwonyi, 2011);

$$\text{H}_2\text{O}_2 = \frac{\text{ml KMnO}_4 \times N \text{ KMnO}_4 \times M.E}{\text{ml H}_2\text{SO}_4 \times \text{volume sampel}}$$

Rumus 3. 2 Perhitungan kadar senyawa hidrogen peroksida

$\text{H}_2\text{O}_2$  = hidrogen peroksida

ml KMnO<sub>4</sub> = volume KMnO<sub>4</sub> yang digunakan

N KMnO<sub>4</sub> = Normalitas KMnO<sub>4</sub>

ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> =volume H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang digunakan

M.E = faktor ekuivalen (1,701/mg)

### 3.5.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat diujikan terhadap bakteri penguji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pengujian ini menurut pada metode difusi cawan agar yang dilakukan oleh Ndaw *et al.*, (2008). Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, terlebih dahulu dilakukan pembiakan bakteri penguji dalam media *nutrient borth* (NB) selama 24 jam. Selain itu disiapkan larutan kloramfenikol 50 mg ke dalam 50 mL aquades sebagai kontrol positif dan aquades steril sebanyak 50 mL sebagai kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Tahap pengujian aktivitas antibakteri adalah; sebanyak 20 mL media *Muller Hinton Agar* (MHA) disiapkan di dalam cawan petri dan diinokulasikan dengan 100  $\mu$ L kultur bakteri penguji pengenceran  $10^{-3}$  menggunakan metode *pour plate*. Setelah media MHA padat, dibuat sumuran dengan diameter  $\pm 6$  mm sebanyak empat sumuran. Sumuran tersebut diisi dengan kultur bebas sel dari bakteri asam laktat sebanyak 80  $\mu$ L. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen ditentukan berdasarkan pada zona bening di sekitar lubang dengan satuan millimeter (mm).

Zona hambat didapatkan dengan mengukur diameter zona bening terluar, dikurang diameter lubang (Gholipourmalekabadi *et al.*, 2015).

$$d = D - D_s$$

Rumus 3. 3 Diameter zona hambat

d = diameter zona hambat

D = diameter bening terluar

D<sub>s</sub> = diameter sumur

Jika diameter zona hambat antara 0-3 mm, maka dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri yang lemah. Diameter zona hambat 3-6 mm maka dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri yang baik, sedangkan aktivitas antibakteri yang kuat dinyatakan apabila diameter zona hambat lebih dari 6 mm (Pan *et al.*, 2009).

### 3.5.7 Analisis Data

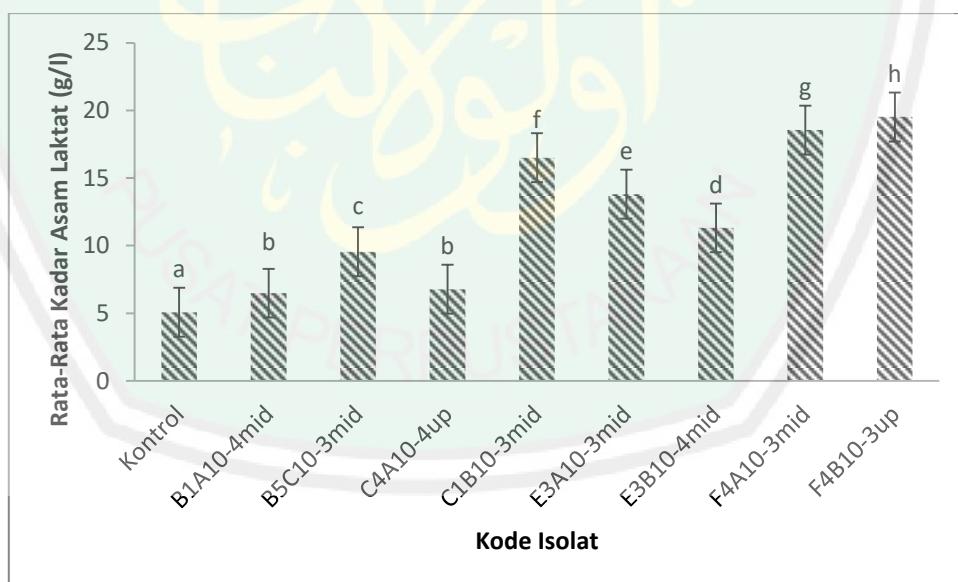
Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika sidik ragam pada data memberikan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf  $\alpha=5\%$ .

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Kadar Senyawa Asam Laktat Isolat Bakteri Asam Laktat

Penelitian kadar senyawa asam laktat isolat bakteri asam laktat (BAL) dengan waktu inkubasi 48 jam menunjukkan adanya perbedaan nyata berdasarkan hasil analisis (Gambar 4.1). Kadar asam laktat kontrol berbeda nyata dengan isolat  $B_1A10^{-4}$ mid,  $B_5C10^{-3}$ mid,  $C_4A10^{-4}$ up,  $C_1B10^{-3}$ mid,  $E_3A10^{-3}$ mid,  $E_3B10^{-4}$ mid,  $F_4A10^{-3}$ mid, dan  $F_4B10^{-3}$ up. Kadar asam laktat isolat  $B_1A10^{-4}$ mid dan  $C_4A10^{-4}$ up tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan isolat-isolat yang lain. Semua isolat kecuali  $B_1A10^{-4}$ mid dan  $C_4A10^{-4}$ up berbeda nyata dengan isolat-isolat lainnya. Isolat  $F_4B10^{-3}$ up memiliki hasil rata-rata kadar asam laktat tertinggi yaitu 19,517 g/l. Isolat ini berbeda nyata dengan isolat-isolat lainnya. Sedangkan kontrol memiliki rata-rata kadar asam laktat terendah yaitu 5,069 g/l. Kontrol yang digunakan dalam pengujian ini berupa media MRS-b yang tidak diberi isolat.



Gambar 4. 1 Kadar senyawa asam laktat isolat bakteri asam laktat transmisi air susu ibu  
(Keterangan: perbedaan huruf menyatakan perbedaan nyata berdasarkan analisis DMRT)

Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat melalui proses fermentasi. Proses fermentasi tersebut dibagi menjadi tiga jenis, yaitu fermentasi homolaktik (homofermentatif), fermentasi heterolaktik (heterofermentatif) dan metabolisme asam campuran. BAL homofermentatif memetabolisme asam laktat melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), dan BAL heterofermentatif menghasilkan asam laktat melalui jalur phosphoketolase (PK) (Settanni & Moschetti, 2010; Zhang *et al.*, 2018; Zaunmüller *et al.*, 2006). Penelitian ini menyatakan bahwa BAL menghasilkan asam laktat sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yüksekdag *et al.* (2004) yang menunjukkan kadar asam laktat tertinggi yaitu 9,9 g/l dan terendahnya adalah 2,3 g/l. Hal yang sama ditunjukkan dalam hasil penelitian Wakil & Osamwonyi (2011) dan Mobolaji *et al.* (2011) yang menunjukkan kadar asam laktat isolat BAL tertinggi masing-masing yaitu 1,81 g/l dan 2,18 g/l. Sedangkan kadar asam laktat terendahnya masing-masing adalah 0,63 g/l dan 0,73 g/l. Kadar senyawa asam laktat pada hasil penelitian tersebut lebih rendah dibandingkan kadar senyawa asam laktat yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat transmisi air susu ibu pada penelitian ini.

Besarnya kadar asam laktat yang dihasilkan menunjukkan bahwa isolat BAL baik digunakan sebagai sumber antibakteri. Asam laktat merupakan senyawa asam organik antibakteri yang dihasilkan oleh BAL dan merupakan senyawa utama yang dihasilkan dalam proses fermentasi gula (Agriopoulou *et al.*, 2020). BAL mendapatkan ATP melalui fermentasi gula menjadi piruvat. NADH diregenerasi melalui konversi piruvat menjadi asam laktat oleh laktat dehydrogenase (LDH) dan membentuk NAD<sup>+</sup>. Kemudian NAD<sup>+</sup> digunakan dalam aksi gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase (GAPDH). Sehingga BAL menghasilkan asam laktat selama mengalami pertumbuhan (Kawai *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018).

Perbedaan kadar senyawa asam laktat pada tiap isolat disebabkan adanya perbedaan metabolisme dari sekian banyaknya jenis kelompok BAL. Sehingga BAL dikategorikan menjadi tiga kelompok berdasarkan jalur metabolismenya untuk

memfermentasi glukosa dan kedapatannya untuk memfermentasi pentosa. Kelompok pertama adalah BAL homofermentatif obligat, grup ini memfermentasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur EMP tapi tidak dapat memfermentasi pentosa. Strain dengan karakter metabolisme ini adalah kelompok BAL yang terkласifikasi dalam *Lactobacillus* grup I. Kelompok kedua adalah BAL heterofermentatif fakultatif, yaitu dapat memfermentasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur EMP dan pentosa melalui jalur PK. Kelompok BAL dengan metabolisme seperti ini diantaranya adalah *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactovum*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, dan *Lactobacillus* spp. grup II. Kelompok yang terakhir adalah BAL heterofermentatif obligat yang dapat memproduksi glukosa dan pentosa melalui jalur PK. Kelompok BAL dalam kategori ini adalah *Leiconostoc*, *Oenococcus*, *Weisella*, dan *Lactobacillus* spp. grup III (Holzapfel & Wood, 2014).

Perbedaan metabolisme tersebut menyebabkan perbedaan kadar senyawa asam laktat yang diproduksi karena setiap jalur untuk pembentukan asam laktat memiliki hasil teoritis yang berbeda. Menurut Taskila & Ojamo (2013), hasil maksimal teoritis asam laktat yang dihasilkan pada jalur EMP adalah dua mol asam laktat per mol glukosa. Sedangkan hasil maksimal teoritis asam laktat yang dihasilkan pada jalur PK adalah satu mol asam laktat per mol heksosa atau satu mol asam laktat per satu mol pentosa (Zhang *et al.*, 2018). Sehingga dapat disimpulkan bahwa BAL yang memiliki tipe metabolisme gula heterofermentatif fakultatif akan menghasilkan asam laktat lebih besar dalam media yang kompleks. Menurut Oliveira *et al.* (2017), BAL homofermentatif obligat dan BAL heterofermentatif fakultatif banyak diinokulasikan pada produk-produk fermentasi untuk meningkatkan fermentasi asam laktat dan menghambat mikroba yang merusak.

Isolat F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up sebagai isolat dengan produksi asam laktat tertinggi diduga merupakan BAL dengan tipe metabolisme heterofermentatif fakultatif. Berdasarkan karakter morfologi bakteri pada pewarnaan Gram, isolat F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up memiliki bentuk streptobasilus. Kelompok BAL berbentuk basil berantai dengan tipe metabolisme

heterofermentatif fakultatif salah satunya adalah dari genus *Lactobacillus* grup II. Orla-Jensen (1919) membagi genus *Lactobacillus* menjadi tiga subgenus, yaitu; *Thermobacterium* untuk homofermentatif obligat, *Streptobacterium* untuk heterofermentatif fakultatif, dan *Betabacterium* untuk heterofermentatif obligat. Menurut Holzapfel & Wood (2014), spesies BAL dari *Lactobacillus* grup II atau subgenus *Streptobacterium* diantaranya adalah *L. acetotolerans*, *L. acidipiscis*, *L. agilis*, *L. algidus*, *L. alimentarius*, *L. paralimentarius*, *L. apodemi*, *L. plantarum*, *L. paraplanatarum*, *L. bifermentas*, *L. fabifementas*, *L. bobalius*, *L. cacaonum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei* subs. *tolerans*, *L. kefiri*, *L. ceti*, *L. composti*, *L. coryniformis*, *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. farraginis*, *L. parafaraginis*, *L. forniasi*, *L. fucuensis*, *L. graminis*, *L. hammesii*, *L. hamsteri*, *L. harbinensis*, *L. homohiochii*, *L. intestinalis*, *L. jensenii*, *L. kimchicus*, *L. murinus*, *L. nantensis*, *L. paucivorans*, *L. pentosus*, *L. perolens*, *L. pobuzihii*, *L. psittaci*, *L. secaliphilus*, *L. senmaizukei*, *L. amylovorus*, *L. spicheri*, *L. xiangfangensis*, dan *L. zae*.

Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Furqan ayat 2;

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ

تَقْدِيرًا -

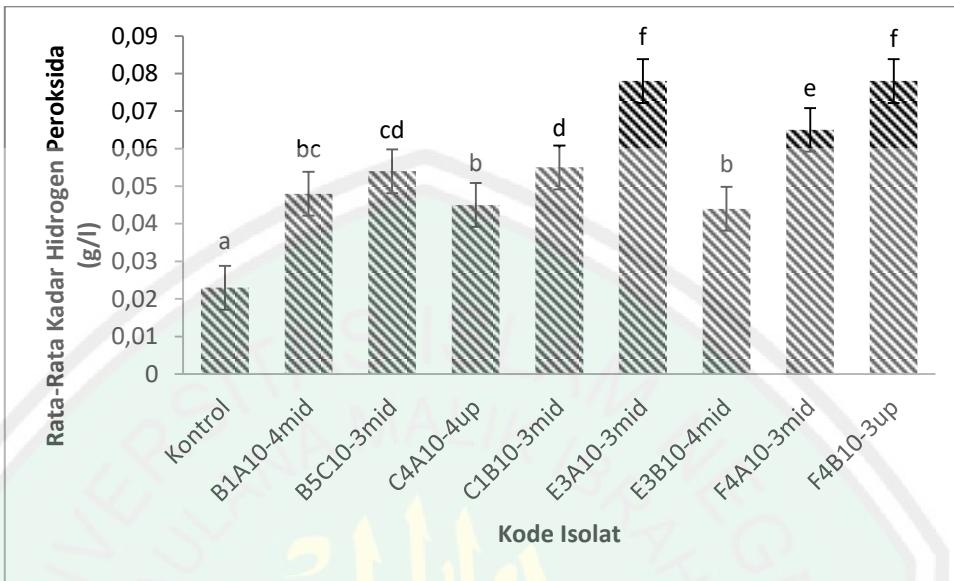
Terjemah (Kemenag, 2002): Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.

Ayat di atas terdapat kata “faqaddarahu wataqdiiraa” menurut tafsir Al-Mishbah oleh M. Quraish Shihab (2002) artinya konstan dan teliti. Semua makhluk di sisi kejadian dan perkembangannya berjalan dalam sistem yang sangat teliti dan bersifat konstan. Semua makhluk terlepas dari jenis dan bentuknya, terdiri dari kesatuan unsur-unsur yang terbatas. Kemudian kesatuan unsur tersebut membentuk sebuah komposisi sesuai dengan hukum yang ditetapkan dan tidak akan melenceng.

Tidak ada yang dapat melakukan hal itu kecuali Allah yang maha pencipta dan maha kuasa. Berdasarkan ayat di atas dapat disimpulkan bahwa diproduksinya asam laktat oleh isolat BAL merupakan ketetapan hukum penciptaan dalam sistem kejadian dan perkembangan makhluk hidup.

#### 4.2 Kadar Senyawa Hidrogen Peroksida Isolat Bakteri Asam Laktat

Penelitian kadar senyawa hidrogen peroksida isolat bakteri asam laktat (BAL) dengan waktu inkubasi 48 jam menunjukkan adanya perbedaan berdasarkan hasil analisis (Gambar 4.2). Kadar hidrogen peroksida kontrol berbeda nyata dengan isolat  $B1A10^{-4}$ mid,  $B5C10^{-3}$ mid,  $C4A10^{-4}$ up,  $C1B10^{-3}$ mid,  $E3A10^{-3}$ mid,  $E3B10^{-4}$ mid,  $F4A10^{-3}$ mid, dan  $F4B10^{-3}$ up. Kadar hidrogen peroksida isolat  $B1A10^{-4}$ mid tidak berbeda nyata dengan isolat  $C4A10^{-4}$ up,  $E3B10^{-4}$ mid, dan juga  $B5C10^{-3}$ mid. Isolat  $B5C10^{-3}$ mid tidak berbeda nyata dengan isolat  $B1A10^{-4}$ mid dan juga  $C1B10^{-3}$ mid namun berbeda nyata dengan isolat-isolat yang lain. Isolat  $F4A10^{-3}$ mid berbeda nyata dengan isolat-isolat lainnya. Isolat  $E3A10^{-3}$ mid dan  $F4B10^{-3}$ up sebagai isolat yang memiliki hasil rata-rata kadar hidrogen peroksida tertinggi tidak berbeda nyata. Rata-rata kadar hidrogen peroksida keduanya yaitu 0,078 g/l. Sedangkan kontrol memiliki rata-rata kadar hidrogen peroksida terendah yaitu 0,023 g/l. Kontrol yang digunakan pada pengujian ini berupa media MRS-b yang tidak diberi isolat.



Gambar 4. 2 Kadar senyawa hidrogen peroksida isolat bakteri asam laktat transmisi air susu ibu

(Keterangan: perbedaan huruf menyatakan perbedaan nyata berdasarkan analisis DMRT)

Bakteri asam laktat memproduksi hidrogen peroksida melalui proses piruvat oksidasi melibatkan gen *spxB*. Gen *spxB* mensintesis dekarboksilase yang bertugas mengkatalisis konversi piruvat, fosfat anorganik (Pi) dan oksigen ( $O_2$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), karbon dioksida ( $CO_2$ ), dan asetil fosfat (Winterbourn, 2013; Chen *et al.*, 2011). Hasil penelitian ini menyatakan hidrogen peroksida diproduksi oleh isolat BAL dengan kadar yang bervariasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Dashe *et al.*, (2020) yang menunjukkan kadar hidrogen peroksida tertinggi adalah 302,10 % dan terendahnya adalah 84,37%. Hal yang sama ditunjukkan dalam penelitian Wakil & Osamwonyi (2011) dan (Yüksekdağ *et al.*, 2004) dengan kadar hidrogen peroksida isolat BAL tertinggi masing-masing adalah 0,068 g/l dan 0,17 g/l. Sedangkan kadar terendahnya masing-masing adalah 0,026 g/l dan 0,01 g/l.

Isolat BAL dengan kadar hidrogen peroksida yang tertinggi adalah isolat yang terbaik untuk digunakan sebagai sumber antibakteri. Hidrogen peroksida merupakan

salah satu senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh BAL. Senyawa ini bekerja sebagai antibakteri secara cepat dengan konsentrasi yang rendah. Hidrogen peroksida dihasilkan sebagai produk samping dalam pembentukan asetil fosfat (Acetyl~P). Asetil fosfat berfungsi sebagai donor gugus fosforil yang berenergi tinggi untuk menghasilkan asetat (Alkawareek *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2011; Wolfe, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar hidrogen peroksida tiap isolat berbeda-beda. Hal ini karena hidrogen peroksida selain dihasilkan melalui metabolisme piruvat oksidasi, hidrogen peroksida juga diproduksi melalui oksidasi oleh aseptor elektron lain yaitu oksigen. Oksigen bertindak sebagai aseptor elektron berdasarkan kehadiran NADH oksidase. NADH oksidase dimiliki oleh semua BAL dan terbagi menjadi dua tipe. Tipe yang pertama  $H_2O_2$ -forming NADH oksidase (NOX-1) yang akan menghasilkan  $H_2O_2$ . Sedangkan tipe pertama  $H_2O$ -forming NADH oksidase (NOX-2) tidak menghasilkan hidrogen peroksida melainkan air (Holzapfel & Wood, 2014). Jadi beberapa jenis BAL dapat memproduksi hidrogen peroksida lebih banyak apabila memiliki enzim NADH oksidase tipe yang pertama.

Isolat  $E_3A10^{-3}$ mid dan  $F_4B10^{-3}$ up sebagai isolat dengan produksi hidrogen peroksida terbesar diduga merupakan BAL yang memiliki enzim  $H_2O_2$ -forming NADH oksidase (NOX-1). Berdasarkan karakter morfologi bakteri pada pewarnaan Gram, isolat  $E_3A10^{-3}$ mid memiliki bentuk kokus berantai (streptokokus), sedangkan isolat  $F_4B10^{-3}$ up memiliki bentuk basil berantai (streptobasilus). Spesies BAL yang memiliki enzim  $H_2O_2$ -forming NADH oksidase (NOX-1) adalah *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus pyogenes*, *Lactococcus lactis*, dan *Streptococcus mutans* (Higuchi *et al.*, 2000; Jiang & Bommarius, 2004; Jiang *et al.*, 2005).

Kadar senyawa hidrogen peroksida pada isolat BAL berbeda-beda. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Hijr ayat 19;

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَا وَالْقَيْنَاءِ فِيهَا رَوَاسِيٌّ وَأَنْبُتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٌ

Terjemah (Kemenag, 2002); Dan Kami telah menghamparkan bumi dan Kami pancangkan padanya gunung-gunung serta Kami tumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran.

Ayat di atas menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. Ayat tersebut terdapat kata “mauzun” yang artinya ditimbang atau ukuran. Menurut tafsir Ibnu Abbas oleh Ali bin Abu Thalhah, “*min kulli syai’in mazun*” artinya segala sesuatu dengan ukuran, “mauzun” artinya maklum (diketahui, tentu). Sedangkan menurut tafsir Al-Mishbah oleh M. Quraish Shihab (2002) artinya sesuai dengan kuantitas dan kebutuhan makhluk hidup. Demikian pula Allah menentukan bentuknya sesuai dengan penciptaan dan habitatnya. Berdasarkan ayat dan uraian di atas, dapat disimpulkan bahwa perbedaan kadar hidrogen peroksida karena Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya masing-masing berdasarkan kebutuhan, termasuk kadar hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh isolat BAL.

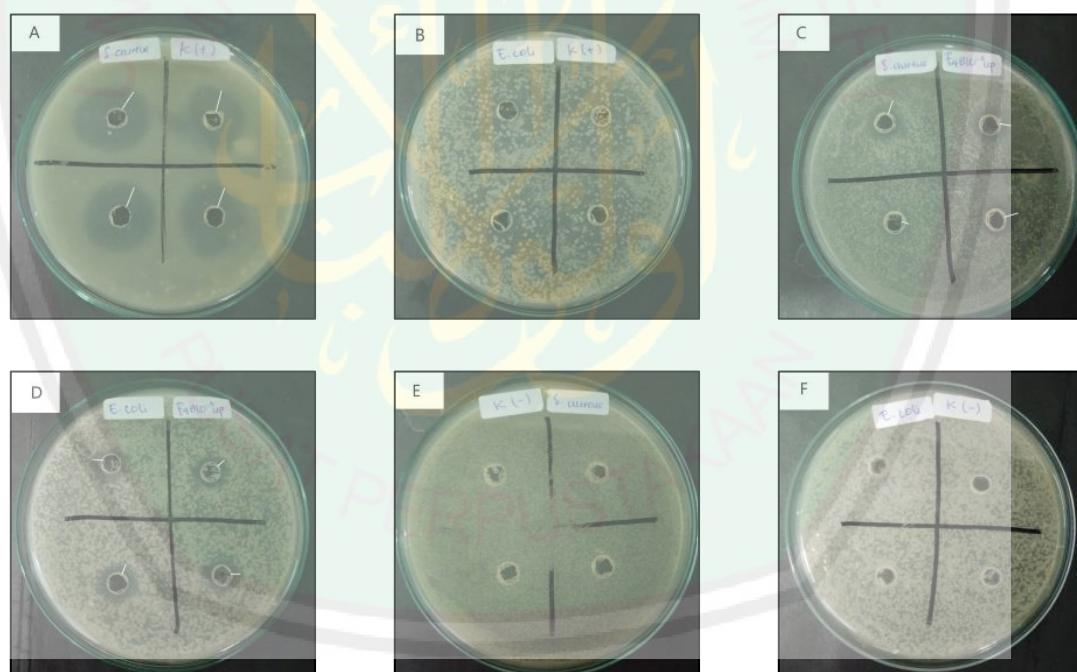
#### 4.3 Aktivitas Antibakteri Kultur Bebas Sel Isolat Bakteri Asam Laktat

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur agar menunjukkan kultur bebas sel isolat BAL transmisi air susu ibu memiliki aktivitas antibakteri (Tabel 4.1). Kontrol positif menghambat bakteri indikator *Staphylococcus aureus* dan menghasilkan diameter zona hambat tertinggi yaitu sebesar 13,953 mm. Isolat F4B10<sup>-3</sup>up menghambat bakteri indikator *Staphylococcus aureus* dan menghasilkan diameter zona hambat terendah yaitu sebesar 5,31 mm. Isolat F4B10<sup>-3</sup>up juga menghambat bakteri indikator *Escherichia coli* dan menghasilkan diameter zona hambat sebesar 6,683 mm. Sedangkan kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri indikator. Zona hambat didapatkan dengan mengukur diameter zona bening terluar, dikurang diameter lubang (Gholipourmalekabadi *et al.*, 2015).

Tabel 4. 1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Perlakuan	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD	Kategori aktivitas antibakteri	Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD	Kategori aktivitas antibakteri
K (+)	13,953 ± 2,153	Kuat	0	Tidak ada
F4B10-3up	5,31 ± 1,003	Baik	6,683 ± 0,831	Kuat
K (-)	0	Tidak ada	0	Tidak ada

Keterangan: (K (+))= kontrol positif (kloramfenikol), K (-)= kontrol negatif (aquades streil), SD= standar deviasi



Gambar 4. 3 Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur agar

(Keterangan: A= kontrol positif terhadap S. aureus, B= kontrol positif terhadap E. coli, C= F4B10-3up terhadap S. aureus, D= F4B10-3up terhadap E. coli, E= kontrol positif terhadap S. aureus, F= kontrol negatif terhadap E. coli.)

Berdasarkan hasil penelitian, kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Staphylococcus*. Isolat F4B $10^{-3}$ up memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini mengacu pada ketentuan menurut Pan *et al.*, (2009) bahwa jika diameter zona hambat antara 0-3 mm, maka dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri yang lemah. Diameter zona hambat 3-6 mm maka dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri yang baik, sedangkan aktivitas antibakteri yang kuat dinyatakan apabila diameter zona hambat lebih dari 6 mm. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Awaishah & Ibrahim (2009) yang menyatakan bahwa BAL dapat menghambat bakteri patogen diantaranya *Listeria monocytogenes* dengan diameter zona hambat sebesar 21 mm, *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 16 mm, *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 19 mm, dan *Salmonella* strain dengan diameter zona hambat 15 mm. Hal yang sama ditunjukkan dalam hasil penelitian Cizekiene *et al.* (2013) bahwa isolat BAL dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 7-14,3 mm.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas dan digunakan untuk melawan bakteri Gram positif, Gram negatif, maupun bakteri anaerob. Kloramfenikol bersifat bakteriostatis namun dapat pula bersifat bakterisidal dalam konsentrasi tinggi. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein. Kloramfenikol akan mengikat 50S subunit ribosom (Oong & Tadi, 2020). Berdasarkan hasil penelitian kloramfenikol dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat terbesar dan dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat, namun tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan baik. Kontrol negatif berupa aquades steril tidak membentuk zona hambat baik pada bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* (Gambar 4.4).

Kloramfenikol tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan baik berdasarkan hasil penelitian ini. Hal ini diduga karena bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam pengujian memiliki resistensi terhadap kloramfenikol. Mekanisme resistensi bakteri terhadap kloramfenikol yang pertama dan sering ditemukan adalah adanya inaktivasi asetilasi obat secara enzimatis oleh kloramfenikol asetyltransferase (CAT) (Schwarz *et al.*, 2000). Penelitian Schwarz *et al.*, (2004) menunjukkan bahwa terdapat bakteri *Escherichia coli* yang memiliki resistensi terhadap kloramfenikol karena memiliki enzim CAT. Enzim CAT yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* dikode oleh gen *catI* yang terdapat pada transposon Tn9 dan R429. Enzim yang dihasilkan merupakan enzim CAT tipe A. Terdapat pula bakteri *Escherichia coli* yang menghasilkan enzim CAT tipe B. Enzim ini dalam bakteri *Escherichia coli* dikodekan oleh gen *catB3* yang terdapat di transposon pHSH2. Selain mekanisme inaktivasi oleh CAT, ada pula mekanisme lain antara lain mekanisme inaktivasi oleh fosfotransferase, mutasi situs target, dan hambatan permeabilitas (Schwarz *et al.*, 2000).

Diameter zona hambat yang dihasilkan terdapat perbedaan pada tiap perlakuan berdasarkan analisis DMRT (lampiran 4). Diameter zona hambat perlakuan kontrol positif terhadap bakteri indikator *Staphylococcus aureus* berbeda nyata dengan semua perlakuan lain. Perlakuan isolat F4B10<sup>-3</sup>up terhadap *Staphylococcus aureus* dan perlakuan isolat F4B10<sup>-3</sup>up terhadap *Escherichia coli* tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan perlakuan-perlakuan lainnya. Perlakuan kontrol positif terhadap *Escherichia coli*, perlakuan kontrol negatif terhadap *Staphylococcus aureus*, dan perlakuan kontrol negatif terhadap *Escherichia coli* tidak menghasilkan diameter zona hambat.

Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh isolat BAL disebabkan adanya produksi substansi antibakteri diantaranya asam organik (laktat, sitrat, asetat, fumerat, dan malat), hidrogen peroksida, CO<sub>2</sub>, diasetil, etanol, reuterin, asetaldehid, asetoin, amonia, bakteriosin, dan substansi penghambat seperti bakteriosin / *bacteriocin-like*

*inhibitory substances (BLIS)* (Agriopoulou *et al.*, 2020; Savadogo *et al.*, 2004; Cizekiene *et al.*, 2013). Asam laktat yang diproduksi bakteri asam laktat memiliki aktivitas antibakteri dengan dua mekanisme penghambatan. Mekanisme penghambatan yang pertama adalah, asam yang lebih bersifat hidrofobik berdifusi ke dalam membran sel. Asam tersebut berdisosiasi di dalam membran sel dan melepaskan ion HC sehingga kondisi sitoplasma menjadi asam. Mekanisme yang kedua, asam laktat yang tidak terdisosiasi menghancurkan gradien proton elektrokimia, menyebabkan bakteriostatis dan akhirnya kematian bakteri (Schnürer & Magnusson, 2005).

Aktivitas antibakteri oleh hidrogen peroksida disebabkan karena hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ).  $\text{OH}\cdot$  yang merupakan oksidan kuat dapat merusak protein menyebabkan penurunan ATP sehingga menghasilkan energi rendah dalam sel.  $\text{OH}\cdot$  juga dapat memutuskan ikatan fosfodiester molekul DNA yang menyebabkan fragmentasi DNA, serta dapat merusak lipid dalam membran sel (Feng & Wang, 2020; Feuerstein *et al.*, 2006). Menurut (Kwakman & Zaai, 2012) reaksi pembentukan  $\text{OH}\cdot$  merupakan reaksi netralisasi yang dapat terbentuk apabila terdapat enzim katalase, sedangkan dalam bakteri asam laktat tidak pernah ditemukan enzim katalase. Aktivitas antibakteri oleh bakteri asam laktat karena adanya hidrogen peroksida terjadi melalui pembentukan  $\text{OH}\cdot$  ketika hidrogen peroksida bertemu dengan Fe bebas melalui reaksi fenton (Halliwell *et al.*, 2000).

Kultur bebas sel isolat F<sub>4</sub>B10<sup>3</sup>up memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap bakteri penguji Gram negatif dan memiliki aktivitas antibakteri kategori baik terhadap bakteri penguji Gram positif berdasarkan ketentuan Pan *et al.*, (2009). Namun diameter zona hambat yang dihasilkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis DMRT. Menurut (Wakil & Osamwonyi, 2011) mekanisme aktivitas antibakteri oleh asam laktat dan hidrogen peroksida tidak berbeda dalam melawan bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Allah SWT berfirman dalam QS. Ali ‘Imran ayat 191

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَى جُنُوبِهِمْ وَيَتَكَبَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ  
هَذَا بَاطِلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Terjemah (Kemenag 2002); (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.

Ayat diatas terdapat lafadz “*rabbana ma khalaqta hazda batila*” yang menurut tafsir Al-Mishbah oleh M. Quraish Shihab (2002) merupakan kesimpulan dari upaya berdzikir dan berpikir. Bisa juga dipahami dzikir dan pikir itu mereka lakukan sambil membayangkan dalam benak mereka bahwa alam raya tidak diciptakan Allah sia-sia. Jika dihubungkan dengan penciptaan mikroorganisme, maka tentunya Allah telah memberi manfaat dan hikmah atas penciptaan tersebut khususnya bakteri asam laktat. Sehingga kita sebagai manusia selayaknya mengkaji dan mempelajari hikmah dibalik penciptaan bakteri asam laktat seraya mengingat kebesaran Penciptanya.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan adalah sebagai berikut:

1. Kadar senyawa asam laktat isolat bakteri asam laktat transmisi air susu ibu berbeda secara nyata. Kode isolat F4B10<sup>-3</sup>up adalah isolat dengan kadar senyawa asam laktat tertinggi, yaitu sebesar 19,517 g/l.
2. Kadar senyawa hidrogen peroksida bakteri asam laktat transmisi air susu ibu memiliki perbedaan. Isolat dengan kadar hidrogen peroksida tertinggi adalah isolat berkode E3A10<sup>-3</sup>mid dan F4B10<sup>-3</sup>up, yaitu sebesar 0,078 g/l.
3. Kultur bebas sel isolat bakteri asam laktat transmisi air susu ibu memiliki aktivitas antibakteri.

#### 5.2 Saran

Penelitian yang telah dilakukan diperlukan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kadar senyawa dan metabolit primer antibakteri yang lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait jalur metabolisme isolat bakteri asam laktat
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antimikroba terhadap patogen yang lebih luas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2011). Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits. *Journal of Biotechnology*, 156(4), 286–301. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.017>
- Admyre, C., Johansson, S. M., Qazi, K. R., Filén, J.-J., Lahesmaa, R., Norman, M., Neve, Etienne P. A. Scheynius, Annika Gabrielsson, S. (2007). Exosomes with Immune Modulatory Features Are Present in Human Breast Milk. *The Journal of Immunology*, 179(3), 1969–1978. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1969>
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M., & Varzakas, T. (2020). Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. *Microorganisms*, 8(6), 1–23. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>
- Ali, A. A. (2011). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Drinking Yoghurt in Khartoum State, Sudan. *Current Research in Bacteriology*, (DOI: 10.3923), 1994–5426.
- Alkawareek, M. Y., Bahlool, A., Abulateefeh, S. R., & Alkilany, A. M. (2019). Synergistic antibacterial activity of silver nanoparticles and hydrogen peroxide. *PLoS ONE*, 14(8), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220575>
- Andreas, N., Kampmann, B., & Le-Doare, K. (2015). *Human breast milk: A review on its composition and bioactivity*. London, United Kingdom: Imperial College London, St. Mary's Hospital.
- Arena, M. P., Capozzi, V., Russo, P., Drider, D., Spano, G., & Fiocco, D. (2018). Correction to: Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties (Applied Microbiology and Biotechnology, (2018), 10.1007/s00253-018-9403-9). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(22), 9871. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9441-3>
- Asakuma, S., Hatakeyama, E., Urashima, T., Yoshida, E., Katayama, T., Yamamoto, K., Kumagai, Hidehiko, Ashida, Hisashi, Hirose, Junko., Kitaoka, M. (2011). Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant gut-associated bifidobacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 286(40), 34583–34592. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.248138>
- Awaisheh, S. S., & Ibrahim, S. A. (2009). Screening of antibacterial activity of lactic acid bacteria against different pathogens found in vacuum-packaged meat products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(9), 1125–1132. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0272>
- Chambers, C., Degen, G., Jazwiec-Kanyion, B., Kapoulas, V., Platzek, T., Rastogi, S. C., Revuz, J., Rogiers, V., Sanner, T., Engellen, J. Van, White, I. R. (2007). Hydrogen peroxide , in its free form or when released , in oral hygiene products

- and tooth whitening products. *Scientific Committee on Consumer Products*, 1–107.
- Chen, L., Ge, X., Dou, Y., Wang, X., Patel, J. R., & Xu, P. (2011). Identification of hydrogen peroxide productionrelated genes in *Streptococcus sanguinis* and their functional relationship with pyruvate oxidase. *Microbiology*, 157(1), 13–20. <https://doi.org/10.1099/mic.0.039669-0>
- Chen, T., Wang, L., Li, Q., Long, Y., Lin, Y., Yin, J., Zeng, Yan Huang, Le., Yao, Tingyu., Abbasi, Muhammad Nazeer., Yang, Huansheng., Wang, Qiye., Tang, Congjia., Khan, T. A. (2020). Functional probiotics of lactic acid bacteria from Hu sheep milk. *BMC Microbiology*, 20(228), 1–12.
- Cizekiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A., & Bartkiene, E. (2013). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control*, 31(2), 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.004>
- Coppa, G. V., Gabrielli, O., Pierani, P., Catassi, C., Carlucci, A., & Giorgi, P. L. (1993). Changes in Carbohydrate Composition in Human Milk Over 4 Months of Lactation. *Pediatrics*, 91(3), 637–641.
- Corr, S. C., Hill, C., & Gahan, C. G. M. (2009). Understanding the Mechanisms by Which Probiotics Inhibit Gastrointestinal Pathogens. In *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 56). [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)00601-3](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00601-3)
- Dashe, D., Bech Hansen, E., Yusuf Kurtu, M., Berhe, T., Eshetu, M., Hailu, Y., Waktola, A., Shegaw, A. (2020). Preservation of Raw Camel Milk by Lactoperoxidase System Using Hydrogen Peroxide Producing Lactic Acid Bacteria. *Open Journal of Animal Sciences*, 10(03), 387–401. <https://doi.org/10.4236/ojas.2020.103024>
- Devasahayam, G., Scheld, W. M., & Hoffman, P. S. (2010). Newer antibacterial drugs for a new century. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 19(2), 215–234. <https://doi.org/10.1517/13543780903505092>
- Dewi, S. S., & Ariyadi, T. (2007). Profil protein bakteri asam laktat isolat air susu ibu. *Jurnal Program Studi Analisis Kesehatan FIK UMS*.
- Dicks, L. M. T., & Botes, M. (2010). Probiotic lactic acid bacteria in the gastrointestinal tract: Health benefits, safety and mode of action. *Beneficial Microbes*, 1(1), 11–29. <https://doi.org/10.3920/BM2009.0012>
- Ernawati, D., Ismarwati, I., & Hutapea, H. P. (2019). Analisi Kandungan FE dalam Air Susu Ibu (ASI) pada Ibu Menyusui. *Jurnal Ners Dan Kebidanan (Journal of Ners and Midwifery)*, 6(1), 051–055. <https://doi.org/10.26699/jnk.v6i1.art.p051-055>
- Farrell, D. J., Morrissey, I., Rubeis, D. De, Robbins, M., & Felmingham, D. (2003). A UK Multicentre Study of the Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infection. *Journal of Infection*, 94–100. <https://doi.org/10.1053/jinf.2002.1091>

- Fedorenko, V., Genilloud, O., Horbal, L., Marcone, G. L., Marinelli, F., Paitan, Y., & Ron, E. Z. (2015). Antibacterial Discovery and Development: From Gene to Product and Back. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/591349>
- Feezor, R. J., Oberholzer, C., Baker, H. V., Novick, D., Rubinstein, M., Moldawer, L. L., Pribble, John., Souza, S., Dinarello, Charles A., Ertel, W., Oberholzer, A. (2003). Molecular characterization of the acute inflammatory response to infections with gram-negative versus gram-positive bacteria. *Infection and Immunity*, 71(10), 5803–5813. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.10.5803-5813.2003>
- Feng, T., & Wang, J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut Microbes*, 12(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1801944>
- Fernanda, M., Raya, R. R., & Vignolo, G. M. (2016). Biotechnology of Lactic Acid Bacteria; Novel Applications. In M. Fernanda, R. R. Raya, & G. M. Vignolo (Eds.), *John Wiley & Sons* (Second Edi). The Atrium, UK: Wiley Blackwell.
- Feuerstein, O., Moreinos, D., & Steinberg, D. (2006). Synergic antibacterial effect between visible light and hydrogen peroxide on Streptococcus mutans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(5), 872–876. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl070>
- García-Quintáns, N., Repizo, G., Martín, M., Magni, C., & López, P. (2008). Activation of the diacetyl/acetoin pathway in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* CRL264 by acidic growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 1988–1996. <https://doi.org/10.1128/AEM.01851-07>
- German, J. B., Freeman, S. L., Lebrilla, C. B., & Mills, D. A. (2008). Human Milk Oligosaccharides: Evolution, Structures and Bioselectivity as Substrates for Intestinal Bacteria Milk and Lactation: Genomics as a Toolset to Reveal Unknown Biological Values of Milk Components. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatra Program*, 62, 205–222. <https://doi.org/10.1159/000146322>
- Ghaffar, T., Irshad, M., Anwar, Z., Aqil, T., Zulifqar, Z., Tariq, A., Kamran, Muhammad., Ehsan, Nudrat., Mehmood, S. (2014). Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(2), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.03.002>
- Gholipourmalekabadi, M., Nezafati, N., Hajibaki, L., Mozafari, M., Moztarzadeh, F., Hesaraki, S., & Samadikuchaksaraei, A. (2015). Detection and qualification of optimum antibacterial and cytotoxic activities of silver-doped bioactive glasses. *IET Nanobiotechnology*, 9(4), 209–214. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2014.0011>
- González, R., Mandomando, I., Fumadó, V., Sacoor, C., Macete, E., Alonso, P. L., & Menendez, C. (2013). Breast Milk and Gut Microbiota in African Mothers and Infants from an Area of High HIV Prevalence. *PLoS ONE*, 8(11).

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080299>
- Greenfield, M., & Clift, S. (1975). Analytical Chemistry of the Condensed Phosphates. In *Greenfield & Clift* (Vol. 57). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-018174-5.50009-2>
- Grimoud, J., Durand, H., Courtin, C., Monsan, P., Ouarné, F., Theodorou, V., & Roques, C. (2010). In vitro screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic glucooligosaccharides to select effective synbiotics. *Journal Anaerobe*, 16(5), 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.07.005>
- Halliwell, B., Clement, M. V., & Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters*, 486(1), 10–13. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)02197-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)02197-9)
- Hampel, D., Dror, D. K., & Allen, L. H. (2018). Micronutrients in Human Milk: Analytical Methods. *Advances in Nutrition*, 9(suppl\_1), 313S-331S. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy017>
- Harianto, S., Sudirman, & Yani, A. (n.d.). *Manfaat Air Susu Ibu (ASI)*. <https://doi.org/10.31227/osf.io/my8dv>
- Helland, M. H., Wicklund, T., & Narvhus, J. A. (2004). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. *International Dairy Journal*, 14(11), 957–965. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.03.008>
- Hessle, C., Andersson, B., & Wold, A. E. (2000). Gram-positive bacteria are potent inducers of monocytic interleukin-12 (IL-12) while gram-negative bacteria preferentially stimulate IL-10 production. *Infection and Immunity*, 68(6), 3581–3586. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.6.3581-3586.2000>
- Hidayat, E., W, I. K., Irhas, M., Sidiq, F., & Susanti, R. (2015). Analysis of Proximate and Protein Profile of Kefir from Fermented Goat and Cow Milk. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 7(2), 2–6. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v7i2.3950>
- Higuchi, M., Yamamoto, Y., & Kamio, Y. (2000). Molecular biology of oxygen tolerance in lactic acid bacteria: Functions of NADH oxidases and Dpr in oxidative stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90(5), 484–493. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(01\)80028-1](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80028-1)
- Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. B. (2014). Lactic Acid Bacteria; Biodiversity and Taxonomy. In *Wiley Blackwell* (First Edit). The Atrium, UK.
- Hopwood, D. A. (2007). *Streptomyces in Nature and Medicine: The Antibiotic Makers*. Retrieved from [http://www.ghbook.ir/index.php?name=&option=com\\_dbook&task=readonline&book\\_id=13629&page=108&chkhashk=03C706812F&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component](http://www.ghbook.ir/index.php?name=&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13629&page=108&chkhashk=03C706812F&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component)
- Jiang, R., & Bommarius, A. S. (2004). Hydrogen peroxide-producing NADH oxidase (nox-1) from *Lactococcus lactis*. *Tetrahedron Asymmetry*, 15(18), 2939–2944. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.07.057>
- Jiang, R., Riebel, B. R., & Bommarius, A. S. (2005). Comparison of alkyl

- hydroperoxide reductase (AhpR) and water-forming NADH oxidase from *Lactococcus lactis* ATCC 19435. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 347(7–8), 1139–1146. <https://doi.org/10.1002/adsc.200505063>
- Jin, B., Yin, P., Ma, Y., & Zhao, L. (2005). Production of Lactic Acid and Fungal Biomass by Rhizopus Fungi from Food Processing Waste Streams. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11–12), 678–686. <https://doi.org/10.1007/s10295-005-0045-4>
- Kang, W., Pan, L., Peng, C., Dong, L., Cao, S., Cheng, H., Wang, Yuguang., Zhang, Chenchen., Gu, Ruixia., Wang, Jiaqi., Zhou, H. (2020). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from human milk. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9980–9991. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18704>
- Kawai, M., Tsuchiya, A., Ishida, J., Yoda, N., Yashiki-Yamasaki, S., & Katakura, Y. (2020). Suppression of lactate production in fed-batch culture of some lactic acid bacteria with sucrose as the carbon source. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(5), 535–540. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.11.009>
- Klassen, N. V., Marchington, D., & McGowan, H. C. E. (1994). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Determination by the I<sub>3</sub>– Method and by KMnO<sub>4</sub> Titration. *Analytical Chemistry*, 66(18), 2921–2925. <https://doi.org/10.1021/ac00090a020>
- Kleerebezem, M., Kuipers, O. P., & Smid, E. J. (2017). Editorial: Lactic acid bacteria-a continuing journey in science and application. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(1), 1–2. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux036>
- Koletzko, B., Rodriguez-Palmero, M., Demmelmair, H., Fidler, N., Jensen, R., & Sauerwald, T. (2001). Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development*, 65(SUPPL. 2), 3–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-3782\(01\)00204-3](https://doi.org/10.1016/S0378-3782(01)00204-3)
- Kwakman, P. H. S., & Zaai, S. A. J. (2012). Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 64(1), 48–55. <https://doi.org/10.1002/iub.578>
- Lönnerdal, B. (2003). Nutritional and Physiologic Significance of Human Milk Proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(6). <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.6.1537s>
- Lönnerdal, B. (2004). Human Milk Proteins: Key Components for the Biological Activity of Human Milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 554, 11–25. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4242-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4242-8_4)
- Lopez, C., & Ménard, O. (2011). Human milk fat globules: Polar lipid composition and in situ structural investigations revealing the heterogeneous distribution of proteins and the lateral segregation of sphingomyelin in the biological membrane. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 83(1), 29–41. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.10.039>
- Martín, R., Jiménez, E., Olivares, M., Marín, M. L., Fernández, L., Xaus, J., & Rodríguez, J. M. (2006). *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *International Journal of Food Microbiology*, 112(1), 35–43.

- <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.011>
- Martín, Rocío, Olivares, M., Marín, M. L., Fernández, L., Xaus, J., & Rodríguez, J. M. (2005). Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21(1), 8–17. <https://doi.org/10.1177/0890334404272393>
- Martín, V., Maldonado-Barragán, A., Moles, L., Rodriguez-Baños, M., Campo, R. Del, Fernández, L., Rodríguez, J., M. Jiménez, E. (2012). Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *Journal of Human Lactation*, 28(1), 36–44. <https://doi.org/10.1177/0890334411424729>
- Meghana, S., Kabra, P., Chakraborty, S., & Padmavathy, M. (2013). RSC Advances. *Royal Society of Chemistry*, 1(3).
- Mobolaji, A., Faniran, Omemu, & Wuraola, O. (2011). Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from two fermented maize products - ogi and kunnu-zaki. *Malaysian Journal of Microbiology*, 7(3), 124–128.
- Molinari, C. E., Casadio, Y. S., Hartmann, B. T., Livk, A., Bringans, S., Arthur, P. G., & Hartmann, P. E. (2012). Proteome Mapping of Human Skim Milk Proteins in Term and Preterm Milk. *Journal of Proteome Research*, 11(3), 1696–1714. <https://doi.org/10.1021/pr2008797>
- Murphy, E. C., & Friedman, A. J. (2019). Hydrogen peroxide and cutaneous biology: Translational applications, benefits, and risks. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81(6), 1379–1386. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.05.030>
- Mustika, D. N., Nurjanah, S., & Ulvie, Y. N. S. (2019). Identifikasi Total Bakteri dan Keasaman Air Susu Ibu Perah ( ASIP ) yang disimpan di Cooler Bag. *Jurnal Gizi*, 8(1), 28–36.
- Ndaw, A., Zinedine, A., Faid, M., & Bouseta, A. (2008). Effect of Controlled Lactic Acid Bacterial Fermentation on the Microbiological and Chemical Qualities of Moroccan Sardines (*Sardina pilchardus*). *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55(3), 295–310. <https://doi.org/10.1556/AMicr.55.2008.3.2>
- Newburg, D. S., & Walker, W. A. (2007). Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk. *Pediatric Research*, 61(1), 2–8. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000250274.68571.18>
- Niedzwecki, A. H., Book, B. P., Lewis, K. M., Estep, J. S., & Hagan, J. (2017). Effects of oral 3% hydrogen peroxide used as an emetic on the gastroduodenal mucosa of healthy dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 27(2), 178–184. <https://doi.org/10.1111/vec.12558>
- Noordiana, N., Fatimah, A. B., & Mun, A. S. (2013). Antibacterial agents produced by lactic acid bacteria isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp. *International Food Research Journal*, 20(1), 117–124.
- Nuraida, L., Mardiana, N. R., Faridah, D. N., & Hana. (2011). Metabolisme Prebiotik Oleh Kandidat Probiotik Isolat Asi Sebagai Dasar Pengembangan Produk Sinbiotik. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, XXII(2).

- Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A. P., Arriola, K. G., Jiang, Y., Kim, Donghyeon, Li, Xujiao, Gonçalves, Mariana C.M., Vyas, Diwakar, Adesogan, A. T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4587–4603. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11815>
- Oong, G. C., & Tadi, P. (2020). *Chloramphenicol*. New Castle: StatPearls Publishing LLC.
- Orla-Jensen, S. (1919). The lactic acid bacteria. *Mém. Acad. Roy. Sci. Denmark Sect.*, 5(181).
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., & Zhao, Z. (2009). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of Lactobacillus acidophilus NIT. *Food Control*, 20(6), 598–602. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.019>
- Pasolli, E., Filippis, F. De, Mauriello, I. E., Cumbo, F., Leech, J., Cotter, P. D., Segata, Nicola., Ercolini, Danilo., Walsh, A. M. (2020). bacteria from food with the gut microbiome. *Nature Communications*, 11(2610), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16438-8>
- Pędziwiatr, P., Mikołajczyk, F., Zawadzki, D., Mikołajczyk, K., & Bedka, A. (2018). Paulina Pędziwiatr, Filip Mikołajczyk, Dawid Zawadzki, Kinga Mikołajczyk, Agnieszka Bedka. *Acta Innovations*, 45(26), 45–52.
- Pretorius, N., Engelbrecht, L., & Du Toit, M. (2019). Influence of sugars and pH on the citrate metabolism of different lactic acid bacteria strains in a synthetic wine matrix. *Journal of Applied Microbiology*, 127(5), 1490–1500. <https://doi.org/10.1111/jam.14401>
- Quthb, S. (2004). *Tafsir Fi Zilalil Quran* (Jilid 2). Jakarta: Gema Insani.
- Ramadhan, D. C., & Rahmawati, R. D. (2019). Manfaat Air Susu Ibu ( ASI ) pada Anak dalam Persepektif Islam. *Eduscope*, 05(01).
- Ray, B., & Bhunia, A. (2014). Fundamental Food Microbiology 5th Ed. 99-115.
- Ridlo, A., & Subagiyo. (2013). Pertumbuhan, Rasio Konversi Pakan dan Kelulushidupan Udang Litopenaeus vannamei yang Diberi Pakan dengan Suplementasi Prebiotik FOS (Fruktooligosakarida). *Buletin Oseanografi Marina*, 2(4), 1–8. <https://doi.org/10.14710/buloma.v2i4.11166>
- Rigos, G., & Troisi, G. M. (2005). Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1–2), 53–73. <https://doi.org/10.1007/s11160-005-7850-8>
- Rochow, N., Fusch, G., Choi, A., Chessell, L., Elliott, L., McDonald, K., Kuiper, Elizabeth., Purcha, Margaret., Turner, Steve., Chan, Emily., Xia, Meng Yang., Fusch, C. (2013). Target Fortification of Breast Milk with Fat, Protein, and Carbohydrates for Preterm Infants. *The Journal of Pediatrics*, 163(4), 1001–1007. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.04.052>

- Sabel, A., Martens, S., Petri, A., König, H., & Claus, H. (2014). Wickerhamomyces anomalus AS1: A new strain with potential to improve wine aroma. *Annals of Microbiology*, 64(2), 483–491. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0678-x>
- Salminen, S., Wright, A. von, & Ouwehand, A. (2004). Lactic acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, 3rd edition, Revised and Expanded. In *Marcel Dekker, Inc* (3rd ed.). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.33201914.x>
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassole, I. H. N., & S. Traore, A. (2004). Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Burkina Faso Fermented Milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(3), 174–179. <https://doi.org/10.3923/pjn.2004.174.179>
- Schwarz, S., Werckenthin, C., & Kehrenberg, C. (2000). Identification of a plasmid-borne chloramphenicol-florfenicol resistance gene in *Staphylococcus sciuri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(9), 2530–2533. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.9.2530-2533.2000>
- Schwarz, Stefan, Kehrenberg, C., Doublet, B., & Cloeckaert, A. (2004). Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(5), 519–542. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>
- Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1–3), 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>
- Shihab, Q. M. (2002a). *Tafsir Al-Mishbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Quran* (Volume 2). Retrieved from <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Shihab, Q. M. (2002b). *Tafsir Al-Mishbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Quran* (Volume 14). Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, Q. M. (2002c). *Tafsir Al-Mishbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Quran* (Volume 9). Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, Q. M. (2002d). *Tafsir Al-Mishbah Pesan Kesan dan Keserasian Al-Quran* (Volume 7). Jakarta: Lentera Hati.
- Silvester, M. E., & Dicks, L. M. T. (2003). Identification of lactic acid bacteria isolated from human vaginal secretions. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 83(2), 117–123. <https://doi.org/10.1023/A:1023373023115>
- Sintubin, L., De Windt, W., Dick, J., Mast, J., Van Der Ha, D., Verstraete, W., & Boon, N. (2009). Lactic Acid Bacteria as Reducing and Capping Agent for the Fast and Efficient Production of Silver Nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(4), 741–749. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2032-6>

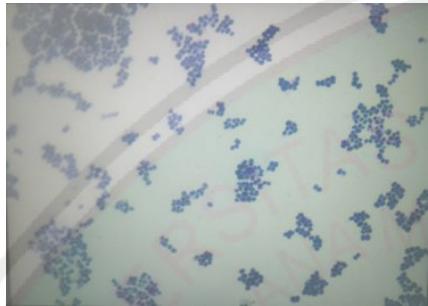
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Pavunc, A. L., Habjanič, K., & Matoć, S. (2010). Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296–307.
- Sutrisna, R., Ekowati, C. N., & Damayanti, R. (2017). Uji Daya Hidup Bakteri Asam Laktat Dari Usus Itik Pada Media Tumbuh Dengan Penambahan Variasi Konsentrasi Molasis. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 16(1), 40–44. <https://doi.org/10.25181/jppt.v16i1.74>
- Talaro KP. Foundation in Microbiology: Basic Principles, Sixth Edition. Mc Graw Hill. New York. 2008.
- Tarigan, I. U., & Aryastami, N. . (2012). Pengetahuan, Sikap Dan Perilaku Ibu Bayi Terhadap Pemberian ASI Eksklusif. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 15, 390–397.
- Taskila, S., & Ojamo, H. (2013). The current status and future expectations in industrial production of lactic acid by lactic acid bacteria. *InTech Open Science*, i(R & D for Food, Health and Livestock Purposes possess), 38. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>
- Taylor, P. W. (2013). Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42(3), 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.05.004>
- Terayama, H. (1952). Method of colloid titration (a new titration between polymer ions). *Journal of Polymer Science*, 8(2), 243–253. <https://doi.org/10.1002/pol.1952.120080209>
- Thalhah, A. bin A. (2018). *Tafsir Ibnu Abbas* (R. A. M. Ar-Rajal, ed.). Jakarta: Pustaka Azzam.
- Urashima, T., Taufik, E., Fukuda, K., & Asakuma, S. (2013). Recent advances in studies on milk oligosaccharides of cows and other domestic farm animals. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(3), 455–466. <https://doi.org/10.1271/bbb.120810>
- Verhue, W. M., & Tjan, F. S. B. (1991). Study of the citrate metabolism of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* by means of <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(11), 3371–3377. <https://doi.org/10.1128/aem.57.11.3371-3377.1991>
- Wakil, S. M., & Osamwonyi, U. O. (2011). Isolation and screening of antimicrobial producing lactic acid bacteria from fermenting millet gruel. *International Research Journal of Microbiology*, 3(2).
- Wexler, P., Abdollahi, M., Peyster, A. De, Gad, S. C., Greim, H., Harper, S., Moser, Virginia C., Ray, Sidhartha., Tarazona, Jose., Wiegand, T. J. (2014). Encyclopedia of Toxicology: Third Edition. In *Academic Press is an imprint of Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00191-3>
- Widodo, T. S., Sulistiyanto, B., & Utama, C. S. (2015). Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Digesta Usus Halus dan Sekum Ayam Broiler yang Diberi Pakan Ceceran Pabrik Pakan yang Difermentasi. *Jurnal Agripet*, 15(2), 98–103.

- <https://doi.org/10.17969/agripet.v15i2.2376>
- Winterbourn, C. C. (2013). The biological chemistry of hydrogen peroxide. In *Methods in Enzymology* (1st ed., Vol. 528). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405881-1.00001-X>
- Wolfe, A. J. (2005). The Acetate Switch. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69(1), 12–50. <https://doi.org/10.1128/mmbr.69.1.12-50.2005>
- Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., & Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express*, 2(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-48>
- Yüksekdağ, Z. N., Beyatlı, Y., & Aslim, B. (2004). Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 663–667. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.02.004>
- Zakariah, M. A., Malaka, R., Laga, A., & Ako, A. (2019). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dangke a White Soft Traditional Cheese from ENrekang Regency. *International Journal of Recent Technology and Engineering*, 8(2), 4148–4151. <https://doi.org/10.35940/ijrte.B3160.078219>
- Zárate, G., & Nader-Macias, M. E. (2006). Influence of probiotic vaginal lactobacilli on in vitro adhesion of urogenital pathogens to vaginal epithelial cells. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 174–180. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01934.x>
- Zaunmüller, T., Eichert, M., Richter, H., & Unden, G. (2006). Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(3), 421–429. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0514-3>
- Zhang, Y., Yoshida, M., & Vadlani, P. V. (2018). Biosynthesis of d-lactic acid from lignocellulosic biomass. *Biotechnology Letters*, 40(8), 1167–1179. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2588-2>

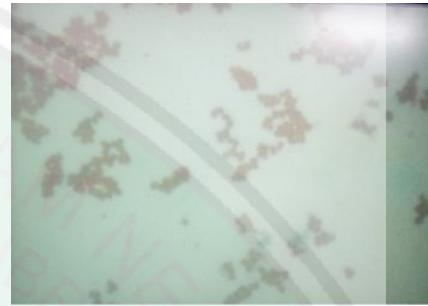
**LAMPIRAN****Lampiran 1. Karakter Isolat Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu**

Kode Isolat: B1A10-4mid

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora

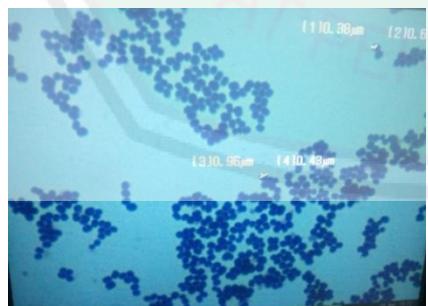


Uji Katalase



Kode Isolat: B5C10-3mid

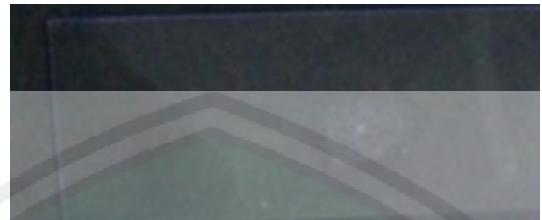
Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora



Uji Katalase



Kode Isolat: C1B10-3mid

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora



Uji Katalase



Kode Isolat: C4A10-4up

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora



Uji Katalase



Kode Isolat: E3A10-3mid

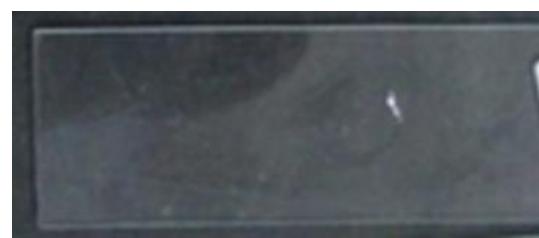
Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora

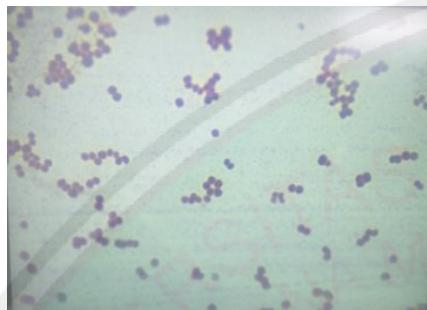


Uji Katalase

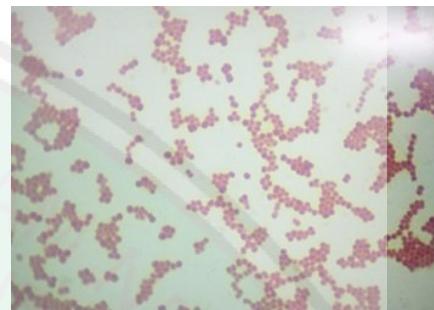


Kode Isolat: E3B10-4mid

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora

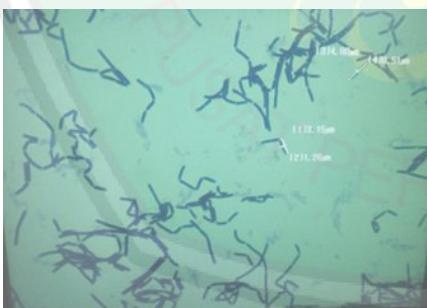


Uji Katalase



Kode Isolat: F4A10-3mid

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora



Uji Katalase



Kode Isolat: F4B10-3up

Pewarnaan Gram



Pewarnaan endospora



Uji Katalase



## Lampiran 2. Data Perhitungan Kadar

### 2. 1 Kadar Asam Laktat

Langkah perhitungan kadar asam laktat kode isolat  $B_1A10^{-4}$  mid ulangan ke-1:

$$\text{asam laktat} = \frac{ml NaOH \times M NaOH \times M.E}{\text{Volume sampel}}$$

$$\text{asam laktat} = \frac{18,9 \times 0,1 \times 90,08 mg}{25 ml}$$

$$\text{asam laktat} = 6,810048 mg/ml$$

$$\text{asam laktat} = 6,810048 g/l$$

Data hasil perhitungan kadar asam laktat semua unit percobaan:

No.	Kode isolat	Ulangan	Volume NaOH			Kadar Asam laktat (g/l)	Rata-rata kadar asam laktat
			Sebelum	Sesudah	Sebenarnya		
1	$B_1A10^{-4}$ mid	1	11,7	30,6	18,9	6,810048	6,485760
2		2	39,4	56,2	16,8	6,053376	
3		3	7	25,3	18,3	6,593856	
4	$B_5C10^{-3}$ mid	1	25,3	50	24,7	8,899904	9,548480
5		2	7	36	29	10,44928	
6		3	0	25,8	25,8	9,296256	
7	$C_4A10^{-4}$ up	1	0	18	18	6,48576	6,774016
8		2	18	37,4	19,4	6,990208	
9		3	0	19	19	6,84608	
10	$C_1B10^{-3}$ mid	1	19	64,3	45,3	16,322496	16,502656
11		2	0	46,4	46,4	16,718848	
12		3	0	45,7	45,7	16,466624	
13	$E_3A10^{-3}$ mid	1	0	37,4	37,4	13,475968	13,800256
14		2	0	39,4	39,4	14,196608	
15		3	0	38,1	38,1	13,728192	
16	$E_3B10^{-4}$ mid	1	0	29,7	29,7	10,701504	11,314048
17		2	0	32	32	11,53024	

18		3	0	32,5	32,5	11,7104	
19	F <sub>4</sub> A10 <sup>-3</sup> mid	1	0	50,1	50,1	18,052032	18,544469
20		2	0	52	52	18,73664	
21		3	0	52,3	52,3	18,844736	
22	F <sub>4</sub> B10 <sup>-3</sup> up	1	0	53,4	53,4	19,241088	19,517333
23		2	0	53,7	53,7	19,349184	
24		3	0	55,4	55,4	19,961728	
25	K (-)	1	1,8	15,5	13,7	4,936384	5,068501
26		2	15,5	30,5	15	5,4048	
27		3	30,5	44	13,5	4,86432	

## 2. 2 Kadar Hidrogen peroksida

Langkah perhitungan kadar hidrogen peroksida kode isolat  $B_1A10^{-4}$ mid ulangan ke-1:

$$H_2O_2 = \frac{ml \text{ KMnO}_4 \times N \text{ KMnO}_4 \times M.E}{ml \text{ H}_2\text{SO}_4 \times \text{volume sampel}}$$

$$H_2O_2 = \frac{18,8 \times 1 \times 1,701 \text{ mg}}{25 \text{ ml} \times 25 \text{ ml}}$$

$$H_2O_2 = 0,05116608 \text{ mg/ml}$$

$$H_2O_2 = 0,05116608 \text{ g/l}$$

Data hasil perhitungan kadar asam laktat semua unit percobaan:

No.	Kode sampel	Ulangan	Volume KMnO4			Kadar hidrogen peroksida (g/l)	Rata-rata kadar hidrogen peroksida
			Sebelum	Sesudah	Sebenarnya		
1	$B_1A10^{-4}$ mid	1	0	18,8	18,8	0,05116608	0,0481723
2		2	19	35	16	0,0435456	
3		3	27	45,3	18,3	0,04980528	
4	$B_5C10^{-3}$ mid	1	0	20,8	20,8	0,05660928	0,0535248
5		2	21,4	39,7	18,3	0,04980528	
6		3	5	24,9	19,9	0,05415984	
7	$C_4A10^{-4}$ up	1	25,7	43,1	17,4	0,04735584	0,0451786
8		2	3	18,7	15,7	0,04272912	
9		3	20	36,7	16,7	0,04545072	
10	$C_1B10^{-3}$ mid	1	17,4	36,6	19,2	0,05225472	0,0546134
11		2	1,2	22,2	21	0,0571536	
12		3	22,4	42,4	20	0,054432	
13	$E_3A10^{-3}$ mid	1	0,7	30,1	29,4	0,08001504	0,0775656
14		2	1,3	29,9	28,6	0,07783776	
15		3	7	34,5	27,5	0,074844	
16	$E_3B10^{-4}$ mid	1	34,8	15	15	0,040824	0,0442714
17		2	15,3	31,8	16,5	0,0449064	
18		3	0	17,3	17,3	0,04708368	

19	F <sub>4</sub> A10 <sup>-3</sup> mid	1	17,6	40,6	23	0,0625968	0,0646834
20		2	0	24,9	24,9	0,06776784	
21		3	25,3	48,7	23,4	0,06368544	
22	F <sub>4</sub> B10 <sup>-3</sup> up	1	1,2	29,6	28,4	0,07729344	0,0777470
23		2	0	27,6	27,6	0,07511616	
24		3	0,4	30,1	29,7	0,08083152	
25	K (-)	1	0	7,6	7,6	0,02068416	0,0225893
26		2	7,7	18	10,3	0,02803248	
27		3	18,3	25,3	7	0,0190512	

### Lampiran 3. Data Pengukuran Diameter Zona Hambat

	Ulangan	<i>Staphylococcus aureus</i>			ta-rata D zona hambat	<i>Escherichia coli</i>			ta-rata D zona hambat
		D terluar	D lubang	D zona hambat		D terluar	D lubang	D zona hambat	
F4B10-3up	1	11,38	5,23	6,15	5,31	11,27	5,48	5,79	6,6825
	2	11,62	5,83	5,79		11,5	5,25	6,25	
	3	10,68	5,25	5,43		12,78	5,76	7,02	
	4	8,76	4,89	3,87		12,9	5,23	7,67	
K (+)	1	22,7	5,63	17,07	13,9525	0	0	0	0
	2	18,7	5,63	13,07		0	0	0	
	3	19,16	5,65	13,51		0	0	0	
	4	17,93	5,77	12,16		0	0	0	
K (-)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		0	0	0	
	3	0	0	0		0	0	0	
	4	0	0	0		0	0	0	

## Lampiran 4. Data Hasil SPSS

### 4. 1 Kadar Senyawa Asam Laktat

Tests of Normality

Kode_isolat	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_AsamLaktat	Kontrol	.335	3	.858	3	.263
	B1A10-4mid	.274	3	.944	3	.545
	B5C10-3mid	.289	3	.928	3	.480
	C4A10-4up	.279	3	.939	3	.525
	C1B10-3mid	.232	3	.980	3	.726
	E3A10-3mid	.246	3	.970	3	.667
	E3B10-4mid	.323	3	.879	3	.321
	F4A10-3mid	.343	3	.843	3	.222
	F4B10-3up	.333	3	.862	3	.272

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar\_AsamLaktat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.774	8	18	.149

ANOVA

Kadar\_AsamLaktat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	705.263	8	88.158	452.848	.000
Within Groups	3.504	18	.195		
Total	708.767	26			

**Kadar\_AsamLaktat**

Duncan

Kode_isolat	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Kontrol	3	5.0667							
B1A10-4mid	3		6.4833						
C4A10-4up	3			6.7767					
B5C10-3mid	3				9.5500				
E3B10-4mid	3					11.3133			
E3A10-3mid	3						13.8033		
C1B10-3mid	3							16.5033	
F4A10-3mid	3								18.5433
F4B10-3up	3								19.5167
Sig.		1.000	.426	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

--	--	--	--	--	--

**4. 2 Kadar Hidrogen Peroksida****Tests of Normality**

Kode_isolat	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Kadar_Hidrogen_Peroks Kontrol	.304	3	.	.907	3	.407	
ida	B1A10-4mid	.337	3	.	.855	3	.253
	B5C10-3mid	.204	3	.	.993	3	.843
	C4A10-4up	.175	3	.	1.000	3	1.000
	C1B10-3mid	.219	3	.	.987	3	.780

E3A10-3mid	.219	3	.	.987	3	.780
E3B10-4mid	.253	3	.	.964	3	.637
F4A10-3mid	.314	3	.	.893	3	.363
F4B10-3up	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Kadar\_Hidrogen\_Peroksida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.659	8	18	.720

#### ANOVA

Kadar\_Hidrogen\_Peroksida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.007	8	.001	89.757	.000
Within Groups	.000	18	.000		
Total	.007	26			

#### Kadar\_Hidrogen\_Peroksida

Duncan

Kode_isolat	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol	3	.0227					
E3B10-4mid	3		.0443				
C4A10-4up	3		.0450				
B1A10-4mid	3		.0483	.0483			
B5C10-3mid	3			.0537	.0537		

C1B10-3mid	3			.0543		
F4A10-3mid	3				.0650	
E3A10-3mid	3					.0777
F4B10-3up	3					.0777
Sig.		1.000	.162	.055	.801	1.000
						1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

--	--	--	--

#### 4.3 Aktivitas Antibakteri

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter_zona_hamba K (+) SA	.331	4		.855	4	.242
t						
F4B10-3up SA	.298	4		.875	4	.319
F4B10-3up EC	.199	4		.973	4	.860

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

diameter\_zona\_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.661	2	9	.243

ANOVA

diameter\_zona\_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	172.573	2	86.286	40.866	.000

Within Groups	19.003	9	2.111	
Total	191.576	11		

diameter\_zona\_hambat

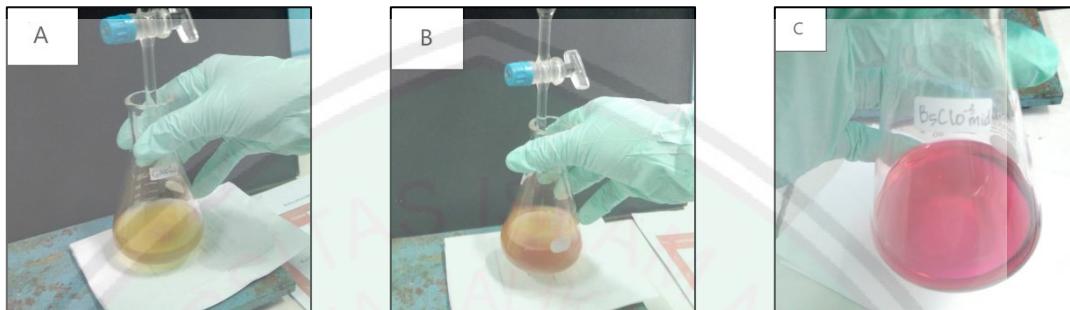
Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
F4B10-3up SA	4	5.3100	
F4B10-3up EC	4	6.6825	
K (+) SA	4		13.9525
Sig.		.214	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 5. Gambar Pengamatan

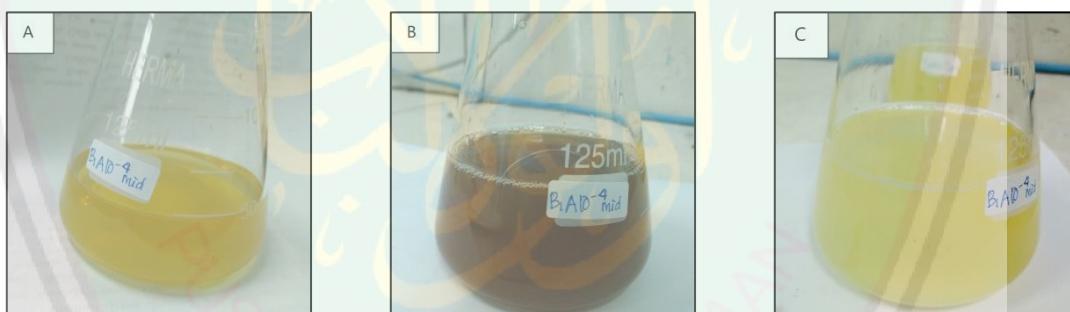
### 5. 1 Pengukuran kadar asam laktat



Penampakan warna sampel saat titrasi berlangsung

(Keterangan: A= sampel setelah diberi phenolphthalein, B= sampel saat titrasi berlangsung, C= sampel yang telah mencapai titik akhir)

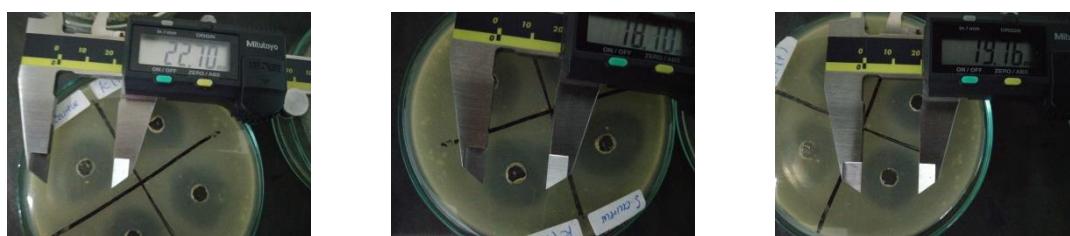
### 5. 2 Pengukuran kadar hidrogen peroksida

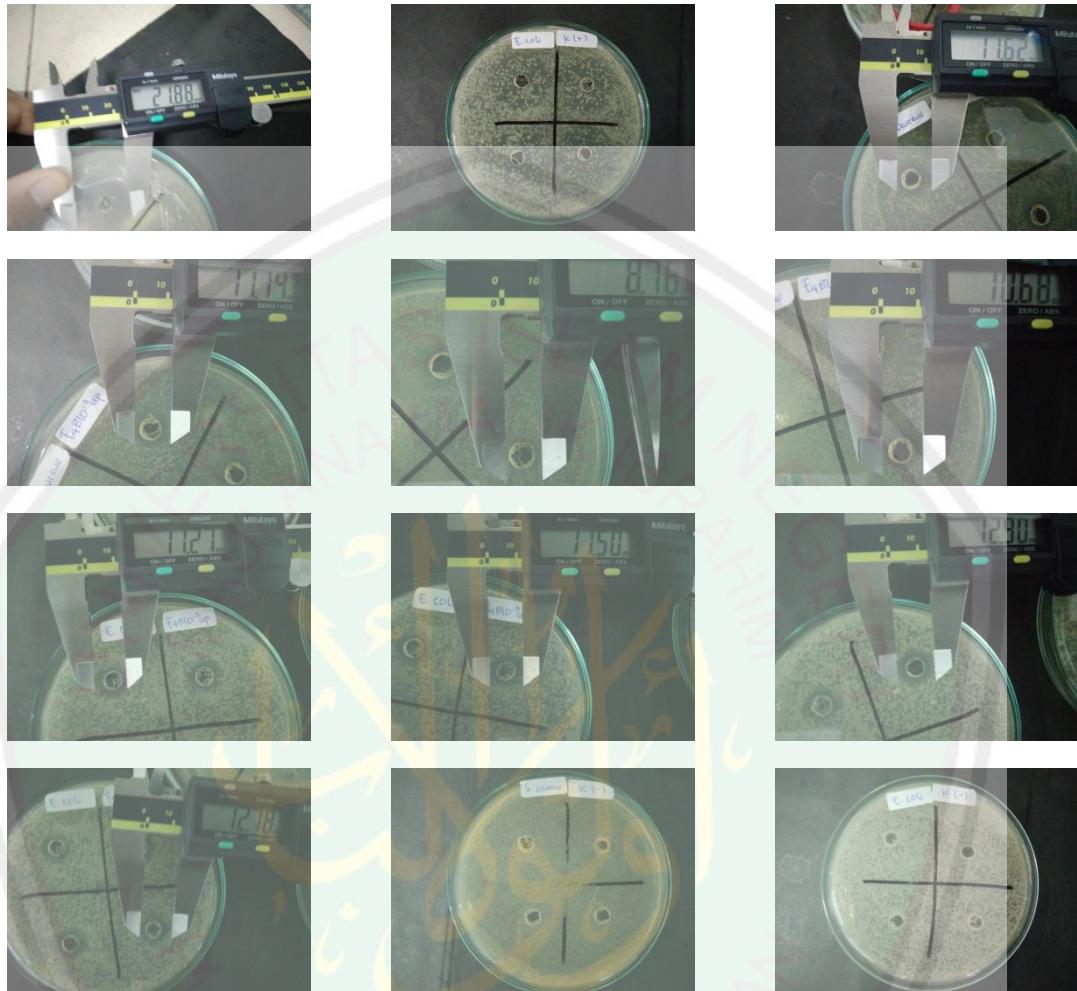


Penampakan warna sampel saat titrasi berlangsung

(Keterangan: A= sampel setelah diberi asam sulfat, B= sampel saat kehabisan hidrogen peroksida, C= sampel yang telah mencapai titik akhir)

### 5. 3 Pengukuran zona hambat





Keterangan (dari kiri ke kanan): K(+)SA ulangan 1, K(+)SA ulangan 2, K(+)SA ulangan 3, K(+)SA ulangan 4, K(+)EC ulangan 1-4, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up SA ulangan 1, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up SA ulangan 2, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up SA ulangan 3, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up SA ulangan 4, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up EC ulangan 1, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up EC ulangan 2, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up EC ulangan 3, F<sub>4</sub>B10<sup>-3</sup>up EC ulangan 4, K (-) SA ulangan 1-4, K(-) EC ulangan 1-4.



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama	:	Khoirun Nisa
NIM	:	15620006
Program Studi	:	S1 Biologi
Semester	:	9 Tahun akademik 2020/2021
Pembimbing	:	Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
Judul Skripsi	:	Analisis Asam Laktat, Hidrogen Peroksida, dan Aktivitas Antibakteri Bateri Asam Laktat dari Air Susu Ibu

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	Selasa, 7 Januari 2020	Konsultasi Judul dan rumusan masalah	(Ttd)
2.	Selasa, 14 Januari 2020	Metodologi	(Ttd)
3.	Senin, 20 Januari 2020	Metodologi dan bab I	(Ttd)
4.	Selasa, 4 Februari 2020	Bab I dan bab II	(Ttd)
5.	Rabu, 19 Februari 2020	Bab I, bab II, bab III	(Ttd)
6.	Jumat, 28 Februari 2020	Bab I, bab II, bab III	(Ttd)
7.	Senin, 20 Juli 2020	Konsultasi judul, rumusan masalah, dan metodologi	(Ttd)
8.	Senin, 10 Agustus 2020	Bab I, bab II, bab III	(Ttd)
9.	Kamis, 20 Agustus 2020	Bab I, bab II, bab III	(Ttd)
10.	Rabu, 2 September 2020	Bab I, bab II, bab III	(Ttd)
11.	Jumat, 6 November 2020	Konsultasi penelitian	(Ttd)
12.	Jumat, 20 November 2020	Konsultasi penelitian	(Ttd)
13.	Senin, 23 November 2020	Bab I-IV dan konsultasi penelitian	(Ttd)
14.	Selasa, 1 Desember	Bab I-V dan konsultasi penelitian	(Ttd)
15.	Jumat, 4 Desember 2020	Bab I-V dan konsultasi penelitian	(Ttd)

Pembimbing Skripsi.

Dr. Nur Kusmiyati, M. Si.  
NIP. 19890816 20160108 2 061

Malang, 7 Desember 2020  
Ketua Prodi Biologi  
  
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI AGAMA SKRIPSI**

Nama : Khoirun Nisa\*  
 NIM : 16620006  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : 9 Tahun Akademik 2020/2021  
 Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M. Pd I.  
 Judul Skripsi : Analisis Asam Laktat, Hidrogen Peroksida, dan Aktivitas Antibakteri Bateri Asam Laktat Transmisi Air Susu Ibu

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	Senin, 6 Januari 2020	Konsultasi hukum pemanfaatan bakteri asam laktat dari air susu ibu	
2	Senin, 13 Januari 2020	Konsultasi hukum pemanfaatan bakteri asam laktat dari air susu ibu	
3	Senin, 10 Agustus 2020	Konsultasi integrasi al-quran dan hadits bab I dan II	
4	Selasa, 11 Agustus 2020	Konsultasi integrasi al-quran dan hadits bab I, II, dan IV	
5	Jumat, 4 Desember 2020	Konsultasi integrasi al-quran dan hadits bab I - V	
6	Minggu, 6 Desember 2020	Acc integrasi al-quran dan hadits bab I - V	

Pembimbing Agama Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd I  
 NIP. 19890113 20180201 1 244

Malang, 7 Desember 2020

Ketua Prodi Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
 NIP. 19741018 200312 2 002