

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr.) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Oleh :
DYNDA ADHA FASTABIQUL ARSY
NIM. 17620124**



**PRODI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr.) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:

DYNDA ADHA FASTABIQUL ARSY

NIM: 17620124

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)

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr.) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
DYNDA ADHA FASTABIQUL ARSY
NIM: 17620124


Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
pada tanggal, 23 Maret 2022

Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si
NIP. 19710919 200003 2 001

Dosen Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



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

AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr.) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus*

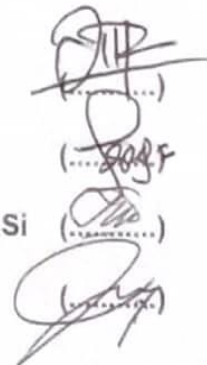
SKRIPSI

Oleh:
DYNDA ADHA FASTABIQUL ARSY
NIM: 17620124

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
(S.Si.)

Tanggal: 23 Maret 2022

Ketua Penguji : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
NIP: 19650509 199903 2 002
Anggota Penguji 1 : Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIPT: 19900428 2016080 1 2062
Anggota Penguji 2 : Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si
NIP. 19710919 200003 2 001
Anggota Penguji 3 : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409



Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Ayah dan mama tercinta, yang telah mendidik, merawat, mendoakan serta memberikan semangat dan dukungan dengan sangat tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Tidak lupa pula pada kakak dan adik-adik saya, yang selalu mendoakan dan memberi support kepada saya untuk tetap semangat dalam menyelesaikan skripsi.
2. Adik-adik saya, serta semua keluarga saya yang sudah mensupport dan mendoakan saya.
3. Ibu pedagang nanas di pasar yang sudah melayani saya dengan baik.
4. Dr. Dwi Suheriyanto, M.P selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan semangat kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
5. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang banyak meluangkan waktu, tenaga, materi serta ilmu yang tidak terhingga untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
6. M. Mukhlis Fahrudin, M.Si., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
7. Teman-teman di lab mikrobiologi yang telah berjuang bersama dan banyak membantu dalam proses penelitian satu sama lain.
8. Teman-teman Wolves Biologi 2017, D'werkewer 2017 dan kontrakan Halal Entertainment yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.
9. Sahabat FLAST terbaik dan tersayang (Nevia Ika Utami, Mamluqil Fariyah, Avilia Fidya Sukma, Bella Anggraini, Fivi Febriyanti, Hana Ayu Afifah, Nisa' Syahinda Zulfati, Ihdini Maulidia, Asa Putri Rizki Rahmawati dan Aisyah Asma Hanifah) terima kasih banyak atas segala perhatian, omelan, dukungan baik moril maupun nonmoril atas selesainya penulisan skripsi ini.
10. Bangtan Sonyeondan yang beranggotakan Kim Namjoon, Kim Seokjin, Min Yoongi, Jung Hoseok, Park Jimin, Kim Taehyung, Jeon Jungkook yang telah

memberikan semangat kepada penulis lewat lagu-lagunya untuk menemani hari-hari saat mengerjakan skripsi.

11. *Last but not least, I wanna thank me. I wanna thank for believing in me, I wanna thank me for doing al this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for never quitting, for just being at al times.*

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dynda Adha Fastabiqul Arsy

NIM : 17620124

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian: Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*

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 tiruan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 Maret 2022
Yang membuat Pernyataan



Dynda Adha Fastabiqul Arsy
NIM.17620124

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 menyebutkannya.

MOTTO

“WA-AHSIN KAMAA AHSANA ALLAAHU ILAYKA”

**(dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat
baik kepadamu (17:77))**

**Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nanas
(*Ananas Comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus
Aureus***

Dynda Adha Fastabiqul A, Bayyinatul Muchtaromah, M. Mukhlis Fahrudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan salah satu jenis buah tropis yang terdapat di Indonesia dengan penyebaran merata dan salah satu tanaman buah yang sudah lama dikenal luas oleh masyarakat. Nanas termasuk buah yang mempunyai kandungan sangat kompleks, kaya akan mineral baik makro maupun mikro, zat organik, air, vitamin dan kandungan senyawa lain seperti Klor, Iodium, Fenol, Flavanoid dan Enzim Bromelain. Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang memiliki banyak manfaat antara lain berperan dalam fermentasi asam laktat dan probiotik, juga dapat menghambat pertumbuhan patogen dan bakteri pembusuk menghasilkan hidrogen peroksida yang bersifat antibakteri menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) yang telah difermentasi sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil isolasi diperoleh 9 isolat yaitu NN1, NN2, NN3, NN4, NN5, NN6, NN7, NN8 dan NN9. Isolat yang diperoleh diidentifikasi secara makroskopis, uji fermentasi, pewarnaan gram, pewarnaan spora dan uji katalase. Dari 9 isolat, didapatkan 3 isolat bakteri asam laktat diduga dari genus *Lactobacillus* yaitu isolat NN2, NN3 dan NN6 sedangkan isolat NN4, NN5, NN7, NN8 dan NN9 diduga dari genus *Leuconostoc*. Bakteri asam laktat (BAL) yang telah diisolasi dari buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) kemudian diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat BAL terpilih dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekeliling isolat BAL terpilih. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut yaitu ditunjukkan oleh isolat NN8 sebesar 15,87 mm dan NN3 sebesar 14,265 mm, sedangkan zona hambat terendah berturut-turut ditunjukkan oleh isolat NN1 sebesar 8,18 mm dan NN 1 sebesar 8,51.

Kata kunci: *Buah nanas, bakteri asam laktat, bakteri patogen, aktivitas antibakteri*

**Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolate From Fermented
Pineapple (*Ananas Comosus* (L) Merr.) Against *Escherichia Coli* And
*Staphylococcus Aureus***

Dynda Adha Fastabiqul A, Bayyinatul Muchtaromah, M. Mukhlis Fahrudin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology
Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) is one type of tropical fruit found in Indonesia with an even distribution and is one of the fruit plants that has long been widely known by the public. Pineapple is a fruit that has a very complex content, rich in minerals, both macro and micro, organic substances, water, vitamins and other compounds such as chlorine, iodine, phenols, flavonoids and bromelain enzymes. Lactic acid bacteria are bacteria that have many benefits, including playing a role in lactic acid fermentation and probiotics, can also inhibit the growth of pathogens and spoilage bacteria to produce hydrogen peroxide which is antibacterial and produces bacteriocin which functions as an antibiotic substance. This study aims to determine the type of lactic acid bacteria found in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) which has been fermented as *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The isolation results obtained 9 isolates, namely NN1, NN2, NN3, NN4, NN5, NN6, NN7, NN8 and NN9. The isolates obtained were identified macroscopically, fermentation test, gram staining, spore staining and catalase test. Of the 9 isolates, obtained 3 isolates of lactic acid bacteria suspected to be from the genus *Lactobacillus*, namely isolates NN2, NN3 and NN6 while isolates NN4, NN5, NN7, NN8 and NN9 were thought to be from the genus *Leuconostoc*. Lactic acid bacteria (LAB) isolated from pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) were then tested for antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The test results showed that the selected LAB isolates could inhibit the growth of the two test bacteria. This was indicated by the formation of a clear zone around the selected LAB isolates. The largest inhibition zones against *S. aureus* and *E. coli* bacteria were NN8 isolates of 15.87 mm and NN3 of 14.265 mm, respectively, while the lowest zones of inhibition were NN1 isolates of 8.18 mm and NN 1, respectively. of 8.51.

Keywords: *Pineapple, lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, antibacterial activity*

نشاط مضاد للجراثيم لبكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من الأناناس (أناناس كوموسوس (L) مير) ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية

ديندا الاضحى فاستبقوا العرش, بينة المحترمة, محمد مخلص فخر الدين
قسم علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج

الملخص

الأناناس (*Ananas comosus* L. Merr) هو نوع واحد من الفاكهة الاستوائية الموجودة في إندونيسيا مع توزيع متساوٍ وهو أحد نباتات الفاكهة التي اشتهرت منذ فترة طويلة من قبل الجمهور. الأناناس هو فاكهة ذات محتوى معقد للغاية ، وغنية بالمعادن ، سواء الكلية أو الدقيقة ، والمواد العضوية ، والمياه ، والفيتامينات ، ومركبات أخرى مثل الكلور ، واليود ، والفينولات ، والفلافونويد ، وإنزيمات البروميلين. بكتيريا حمض اللاكتيك هي بكتيريا لها فوائد عديدة ، بما في ذلك لعب دور في تخمير حمض اللاكتيك والبروبيوتيك ، ويمكن أيضًا أن تمنع نمو مسببات الأمراض وتنتج بكتيريا التلف بيروكسيد الهيدروجين وهو مضاد للبكتيريا لإنتاج البكتيريا التي تعمل كمضادات حيوية. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد نوع بكتيريا حمض اللاكتيك الموجودة في الأناناس (*Ananas comosus* L. Merr) والتي تم تخميرها كمضاد للبكتيريا للإشريكية القولونية و *S. aureus*. تم الحصول على 9 عزلات من العزلات وهي NN1. NN2 و NN3 و NN4 و NN5 و NN6 و NN7 و NN8 و NN9. تم التعرف على العزلات التي تم الحصول عليها بشكل مجهري واختبار التخمر وتلطبخ الجرام وتلطبخ البوغ واختبار الكاتالاز. من بين 9 عزلات تم الحصول على 3 عزلات من بكتيريا حمض اللاكتيك المشتبه في كونها من جنس *Lactobacillus* وهي العزلات NN2 و NN3 و NN6 بينما كان يعتقد أن العزلات NN2 و NN4 و NN5 و NN7 و NN8 و NN9 من جنس *Leuconostoc*. تم بعد ذلك اختبار بكتيريا حمض اللاكتيك (LAB) المعزولة من الأناناس (*Ananas comosus* L. Merr) لمعرفة نشاطها المضاد للميكروبات ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*. أظهرت نتائج الاختبار أن عزلات LAB المختارة يمكن أن تمنع نمو بكتيريا الاختبار. تمت الإشارة إلى ذلك من خلال تكوين منطقة واضحة حول عزلات LAB المختارة. كانت أكبر مناطق التثبيط ضد بكتيريا *S. aureus* و *E. coli* عزلات NN8 بحجم 15.87 مم و NN3 بحجم 14.265 مم على التوالي ، بينما كانت أقل مناطق التثبيط هي عزلات NN1 البالغة 8.18 مم و NN 1 على التوالي.

الكلمات الرئيسية: الأناناس (*Ananas comosus* L. Merr)، بكتيريا حمض اللاكتيك ، البكتيريا المسببة للأمراض ، النشاط المضاد للبكتيريا

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohim, Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakan diinul islam yang terpatri hingga akhirul zaman Aamiin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi dorongan dan bimbingan sampai terselesaikannya tugas akhir ini khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si dan Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.Si selaku dosen pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaikannya tugas akhir ini.
5. Dr. Dwi Suheriyanto, M.P selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di program studi biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dengan setia menemani dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Ayah dan Mamaku serta segenap keluarga besarku tercinta yang telah memberikan doa, dukungan, semangat dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan program studi.

8. Terimakasih kepada teman-teman biologi kelas D'Werkewer, WOLVES 17 dan kontrakan Halal Entertainment telah membantu dan memberi semangat.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis menjadi pahala dan semoga mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis dengan baik dan cermat, apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, 03 Februari 2022

Penulis

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	keterangan
BAL	Bakteri asam laktat
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>
MRSA	<i>De Mann Rogosa Sharpe Agar</i>
MRSB	<i>De Mann Rogosa Sharpe Broth</i>
CaCO ₃	Kalsium karbonat
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
NaCl	Natrium clorida

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
الملخص	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis.....	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Nanas (Ananas comosus)	12
2.2 Bakteri Asam Laktat	16
2.2.1 Lactobacillus	19
2.2.2 Leuconostoc	20
2.2.3 Pediococcus.....	20
2.2.4 Streptococcus	21
2.3 Fermentasi Bakteri Asam Laktat.....	21

2.4 Karakteristik Bakteri Asam Laktat.....	21
2.4.1 Pewarnaan Gram	23
2.4.2 Pewarnaan Endospora	24
2.4.3 Uji Katalase	24
2.4.4 BAL Homofermentatif dan Heterofermentatif.....	25
2.5 Peranan Bakteri Asam Laktat.....	27
2.6 Antimikroba	29
2.7 Bakteri Uji.....	29
2.7.1 Bakteri Escherichia coli	29
2.7.2 Bakteri Staphylococcus aureus	32
2.8 Media Selektif MRSA dan MRSB.....	34
2.9 Isolasi Bakteri Asam Laktat	35

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian.....	37
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	37
3.3 Variabel Penelitian	37
3.3.1 Variabel Bebas	37
3.3.2 Variabel Terikat	37
3.3.3 Variabel Kontrol.....	38
3.4 Alat dan Bahan.....	38
3.4.1 Alat.....	38
3.4.2 Bahan	38
3.5 Prosedur kerja.....	39
3.5.1 Sterilisasi Alat	39
3.5.2 Pengambilan Sampel.....	39
3.5.3 Pembuatan Media.....	39
3.5.4 Fermentasi Nanas (<i>Brassica oleracea</i>)	40
3.5.5 Isolasi Bakteri Asam Laktat	41
3.5.6 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL).....	41
3.5.7 Uji Antibakteri	44
3.6 Teknik Analisis Data.....	45

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat Pada Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	47
4.1.1 Pengamatan Makroskopis	47

4.2 Pewarnaan Gram	50
4.3 Pewarnaan Endospora	52
4.4 Uji Katalase	54
4.5 Uji Tipe Fermentasi.....	56
4.6 Aktivitas Antibakteri Bal dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>) terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	67
5.2. Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN.....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Morfologi sel BAL berbentuk basil dan coccus.....	22
Gambar 2.2 Morfoligi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	31
Gambar 2.3 Morfologi Bakteri <i>Staphilococcus aureus</i>	32
Gambar 3.1 Pewarnaan Gram isolat Bakteri Asam Laktat (1000X).....	42
Gambar 3.2 Peletakan kertas cakram pada cawan petri	45
Gambar 4.1 Zona hambat pada Uji Antibakteri Bakteri E. coli Isolat BAL dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	59
Gambar 4.2 Zona hambat pada Uji Antibakteri Bakteri S. aereus Isolat BAL dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>).....	60

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Habitat Bakteri Asam Laktat	19
Tabel 2.2 Karakteristik 3 sub grup genus <i>Lactobacillus</i> sp.	26
Tabel 2.3 Medium MRSA.....	35
Tabel 4.1 Karakterisasi Morfologi koloni Bakteri Asam Laktat pada Nanas (<i>Ananas comosus</i>).....	47
Tabel 4.2 Hasil pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat pada Nanas (<i>Ananas comosus</i>).....	51
Tabel 4.3 Hasil isolat BAL berdasarkan pengamatan pewarnaan endospora yang diperoleh dari buah nanas (<i>Ananas comosus</i>)	53
Tabel 4.4 Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	54
Tabel 4. 5 Hasil pengamatan uji tipe fermentasi isolat BAL	56
Tabel 4.6 Hasil pengukuran zona hambat Isolat BAL dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>) pada Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	61
Tabel 4.7 Kategori Rerata Diameter Panghambatan Zat Antibakteri	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Isolat BAL dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	80
Lampiran 2. Komposisi media yang digunakan dalam penelitian	81
Lampiran 3. Gambar Hasil Isolat dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	82
Lampiran 4. Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	83
Lampiran 5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	85
Lampiran 6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	87
Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	89
Lampiran 8. Tabel Kategori Zona Hambat	91

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanas, (*Ananas comosus*), termasuk dalam ordo Bromeliales, famili Bromeliaceae dan subfamili Bromelioideae. Termasuk buah tropis terpenting ketiga dalam produksi dunia setelah pisang dan jeruk. Sekitar 70% nanas diproduksi di dunia dikonsumsi sebagai buah segar di negara asalnya. Pengolahan nanas telah membuat buah ini terkenal di seluruh negara maju. Sebagian besar produk nanas di perdagangan internasional adalah irisan kalengan, potongan (kemasan padat), jus dan buah segar (Ogunmefun, *et. al.*, 2018).

Pasar nanas telah berkembang secara luas dari tahun ke tahun karena senyawa aroma dan nilai gizi yang menarik. Permintaan yang besar oleh konsumen dan harga eceran yang rendah juga mempengaruhi pesatnya produksi nanas. Pada tahun 2018, Organisasi Pangan dan Pertanian Dunia (FAO) mengeluarkan data terkait lima negara penghasil nanas terkemuka diantaranya Kosta Rika, Filipina, Brazil, Thailand dan Indonesia (Hossain, 2016).

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) memiliki mata yang banyak dan memiliki warna kuning keemasan. Pohon nanas sendiri dapat tumbuh subur di daerah beriklim tropis seperti di Indonesia dengan masa panen relatif singkat, yaitu antara 2 sampai 3 kali setahun. Nanas dapat dibudidayakan dari potongan tajuk buah, kemungkinan berbunga dalam 20-24 bulan dan berbuah dalam enam bulan berikutnya. Nanas memiliki kandungan air 90% dan kaya akan kalium, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, natrium, iodium, sulfur, khlor, biotin, vitamin A, vitamin B12, vitamin C, vitamin E, dekstrosa, sukrosa serta enzim bromelin, yaitu

enzim protease yang dapat menghidrolisis protein, protease, atau peptide (Ali dkk, 2020). Kandungan vitamin C pada nanas termasuk kategori unggul karena dapat memiliki densitas nutrisi sangat tinggi, yaitu mencapai 30,3 (batas kategori unggul adalah lebih besar dari 7,5). Vitamin C dikenal sebagai senyawa utama tubuh yang dibutuhkan dalam berbagai proses penting, mulai dari pembuatan kolagen (protein berserat yang membentuk jaringan ikat pada tulang), pengangkut lemak, pengangkut elektron dari berbagai reaksi enzimatik (Laia, dkk 2019).

Nanas merupakan salah satu buah yang mengandung serat dan air. Dalam nanas terdapat kandungan serat sebesar 1,4 gram dan air sebesar 86,37 gram tiap 100 gram daging buah nanas. Nanas memiliki kandungan sangat kompleks, dengan khasiat yang beraneka ragam (Embisa dkk, 2016). Nanas sangat mudah didapat dan jumlahnya melimpah karena masa panennya tidak mengenal musim. Memiliki karakteristik khas dari segi aroma, rasa dan warna yang disukai sebagian besar masyarakat (Kartika dan Nisa, 2014).

Hasil penelitian dari Laia H (2019), menyatakan bahwa air perasan daging buah nanas (*Ananas comosus* (L) merr var. queen) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan dengan rata-rata diameter zona hambat 8,1- 9,25 mm. Buah nanas mengandung tanin, flavonoid, dan steroid yang kemungkinan memiliki efek antibakteri (Bansode, *et al.*, 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Miranda A. J. Makalew dengan menggunakan air perasan daging buah nanas (*Ananas comosus* (L) merr var. queen) pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki efektivitas sebagai antibakteri dengan rata-rata diameter zona hambat 0,65- 2,22 mm.

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme menguntungkan yang digunakan sebagai kultur starter untuk pengolahan pangan fungsional. BAL ini tidak beracun bagi inang dan memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri patogen. Produk metabolisme utama BAL adalah asam laktat. Namun BAL juga menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan pembusuk dan mikroba patogen karena fungsi metabolit tersebut sebagai senyawa antimikroba (Aritonang *et al.*, 2017).

Bakteri asam laktat (BAL) telah dipelajari secara ekstensif untuk komersialnya, potensi pengawetan makanan dan manfaat kesehatan. BAL adalah mikroorganisme industri penting yang digunakan di seluruh dunia terutama dalam industri susu untuk pembuatan produk susu fermentasi dan keju. Pentingnya industri BAL adalah berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi gula dengan mudah menjadi metabolit yang berbeda dan menyediakan metode yang efisien untuk mengawetkan produk makanan fermentasi. Menurut Nurin, dkk (2017) menyatakan bahwa Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang menghasilkan amilase ekstra seluler dan menfermentasi pati menjadi asam laktat secara langsung. Proses hidrolisis enzimatis substrat karbohidrat (pati) dan fermentasi gula merupakan gabungan dua proses yang dilakukan oleh bakteri asam laktat dalam menghasilkan asam laktat. Bakteri ini dapat berfungsi sebagai pengawet makanan, peningkatan keamanan dan kualitas higiene pangan melalui proses penghambatan pertumbuhan flora berbahaya yang bersifat patogen dengan cara menurunkan pH lingkungan, memproduksi asam organik dan mengekskresikan senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer asam

amino dan bakteriosin. Bakteri ini bersifat gram positif, tidak membentuk spora dan secara alami terdapat pada media dan kaya pada produk organik seperti produk makanan (Islam *et al.*, 2020). Produk metabolisme utama BAL adalah asam laktat. Namun BAL juga menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan pembusuk dan mikroba patogen karena fungsi metabolit tersebut sebagai senyawa antimikroba (Aritonang *et al.*, 2017).

Bakteri asam laktat termasuk dalam genera *Atopobium* dan *Bifidobacterium*, dengan kandungan guanin-sitosin (GC) masing-masing 36-46% dan 58-61% (Wedajo, 2015). BAL dapat menghasilkan senyawa organik seperti asam format, asam laktat, asam asetat dan asam lain yang dapat menurunkan pH usus. Mekanisme lain dari BAL mengsekresikan senyawa antimikroba seperti etanol, hidrogen peroksida, asam lemak dan bakteriosin (Chen *et al.*, 2019). Hal ini diperkuat oleh pernyataan dari Hutahean *et al.*, (2019) bahwa, Ciri-ciri BAL mirip dengan *Lactobacillus* sp, yaitu bakteri gram positif berwarna ungu, berbentuk basil, tidak berspora, tidak motil, katalase-negatif dan mampu memfermentasikan gula.

Fermentasi dapat dideskripsikan sebagai suatu proses perubahan secara biokimia pada bahan pangan oleh aktivitas mikroorganisme dan metabolit aktivitas enzim, yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut. Asam laktat secara alami mengandung asam organik yang banyak manfaatnya. Penelitian mengenai asam laktat berkembang semakin pesat dan terus berkembang karena asam laktat memiliki potensi yang besar dalam pemanfaatannya pada berbagai aspek seperti industri pangan maupun non-pangan (Sasmita, dkk, 2018). Fermentasi telah digunakan untuk memperpanjang umur simpan makanan selama lebih dari 6000 tahun. Makanan fermentasi telah memainkan peran penting dalam pola makan

hampir setiap masyarakat di seluruh dunia dan dikenal menawarkan berbagai manfaat. Meskipun awalnya digunakan untuk pengawetan makanan, fermentasi memiliki banyak manfaat yang meliputi peningkatan karakteristik sensorik, daya terima, nilai gizi, dan keamanan makanan. Fermentasi asam laktat adalah salah satu metode pengawetan yang umum dan termudah yang bisa dilakukan di rumah. Fermentasi asam laktat adalah metode yang digunakan untuk mengawetkan produk susu, sayuran, dan daging untuk waktu yang lama sebelum munculnya praktik pendinginan dan pengalengan modern dan saat ini juga digunakan dalam fermentasi industri. (Wardani, dkk 2017). Bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* spp., *Lactococci*, *Streptococcus thermophilus* dan *Leuconostocs* merupakan contoh bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan untuk mengubah gula menjadi asam laktat. Asam laktat menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya atau patogen dari spesies lain. Ini juga menciptakan kondisi yang menguntungkan untuk aktivitas ragi, properti yang digunakan dalam produksi anggur dan bir (Malo, 2016). Menurut Papuangan (2014), di Indonesia telah banyak dilaporkan hasil penelitian yang mengungkap potensi bakteri asam laktat sebagai hasil substansi antimikrobia dari bahan makanan hasil fermentasi.

Penelitian terdahulu mengungkapkan potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang banyak ditemukan di isolasi buah-buahan dan sayur-sayuran tropis seperti durian, nanas, sirsak, cacao, pisang, mangga, tomat, kubis, asinan sawi, selada dan beberapa buah dan sayur lainnya (Sasmita,2018). Penelitian lain juga dilakukan oleh Haro *et al.*, (2020) Bakteri yang diisolasi dari Dengke Naniura menghasilkan 1 koloni bakteri berbentuk oval berwarna putih dan memberikan gambaran yang zona jernih di sekitar bakteri. Karena ketika MRSA + CaCO₃ 1% media bereaksi

dengan asam laktat yang dimetabolisme dari bakteri asam laktat akan membentuk kalsium laktat yang larut dalam media dan menghasilkan zona bening di sekitar koloni bakteri.

Penyakit diare menjadi permasalahan utama di negara-negara berkembang termasuk di Indonesia. Selain sebagai penyebab kematian, diare juga menjadi penyebab utama gizi kurang yang bisa menimbulkan kematian serta dapat menimbulkan kejadian luar biasa (Tuang, 2021). Menurut WHO, penyakit diare merupakan salah satu penyebab utama kematian balita di negara berkembang. Angka kejadian diare pada anak tiap tahun diperkirakan 2,5 milyar, dan lebih dari setengahnya terdapat di Afrika dan Asia Selatan dan akibat dari penyakit ini lebih berat serta mematikan. Secara global setiap tahun penyakit ini menyebabkan kematian balita sebesar 1,6 juta (Hannif et al., 2011). Kementerian Kesehatan (Kemenkes) mencatat penyebab utama kematian pada balita (usia 12-59 bulan) di Indonesia adalah diare. Tercatat terdapat 314 kematian akibat diare pada balita Indonesia pada 2019.

Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus dan parasit. Penyebab diare terbanyak kedua setelah rotavirus adalah infeksi karena bakteri *Escherichia coli* (Monem et al., 2014). *Escherichia coli* merupakan bakteri komensal, patogen intestinal dan pathogen ekstraintestinal yang dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius, meningitis, dan septicemia. Sebagian besar dari bakteri *E. coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bakri, dkk 2015).

Salah satu mikroba penyebab infeksi pada kulit adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini biasa terdapat pada berbagai bagian tubuh manusia, termasuk hidung, tenggorokan, kulit, dan sangat mudah masuk kedalam tubuh melalui makanan. *Staphylococcus aureus* bersifat patogen dan invasif, menghasilkan enzim koagulase, pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya infeksi pasca operasi atau infeksi yang menyertai trauma (Raharjati, dkk 2013).

Allah SWT memerintahkan umat manusia untuk memikirkan gejala dan fenomena alam yang terjadi karena dengan memikirkan hal tersebut, manusia akan sampai pada pengetahuan tentang hukum-hukum alam yang dapat dikembangkan menjadi teknologi yang berguna bagi kehidupan manusia dan pada tingkatan yang lebih tinggi akan mengantarkan manusia kepada suatu keyakinan bahwa gejala dan fenomena tersebut pada hakikatnya telah diatur oleh yang maha kuasa. Allah SWT menciptakan alam ini sarat dengan tujuan dan kemanfaatan bagi manusia. Selanjutnya mereka memohon kepada Allah SWT supaya mereka dihindarkan dari siksa api neraka.

Sebagai manusia yang diciptakan oleh Allah SWT dengan kelebihan otak yang manusia miliki, sudah seharusnya manusia tidak menyia-nyiakan rahmat Allah. Manusia bisa memanfaatkannya untuk terus menuntut ilmu, terus mengasah pikiran agar lebih berkembang dengan banyak mempelajari hal hal yang ada disekelilingnya. Sehingga dengan kemajuan teknologi dan kewajiban manusia untuk terus menemukan inovasi-inovasi baru, ilmu-ilmu baru pun dengan mudah akan didapat. Seperti halnya makhluk kecil seperti bakteri asam laktat yang merupakan golongan bakteri baik yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan.

Hal ini dapat menyadarkan manusia bahwa segala sesuatu yang Allah SWT ciptakan tidak ada yang sia-sia pasti semuanya memiliki manfaat dan peran masing-masing. Allah SWT berfirman dalam surat Ali – Imran ayat 191 sebagai berikut :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا
مَا خَلَقْتَهُذَا بٰطِلًا ؕ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”. (Q.S Ali-Imron: 191).

Surat Ali Imran ayat 191 menjelaskan ciri-ciri ulul albab. Bahwa ulul albab adalah orang yang banyak berdzikir dan berpikir. Ia berdzikir dalam segala kondisi baik saat berdiri, duduk ataupun berbaring. Ia juga mentafakkuri (memikirkan) penciptaan alam ini hingga sampai pada kesimpulan bahwa Allah menciptakan alam tidak ada yang sia-sia. Maka ia pun berdoa kepada Allah, memohon perlindungan dari siksa neraka. Hasan dalam tafsir Al- Manar menjelaskan bahwa, Pengertian zikir di sini lebih dimaknai secara umum. Artinya tidak husus dengan saat sholat saja. Jadi arti zikir itu ialah mengingat Allah SWT dengan hati serta menghadirkannya di dalam ingatan. Mengingat-Nya di dalam segenap hal yaitu di waktu berdiri, duduk dan berbaring, karena seorang hamba tidak lepas dari ketiga hal tersebut. Menurut Abdul Malik Abdul Karim Abdullah dalam karyanya Tafsir AlAzhar, orang yang berpikir yaitu orang-orang yang mengingat Allah SWT sewaktu berdiri, duduk atau berbaring artinya orang yang tidak pernah melupakan Allah SWT dari ingatannya. Di sini disebut yadzkuruna yang berarti ingat, berasal dari kalimat zikir yang artinya ingat. Dan disebutkan pula bahwa zikir itu hendaklah bertali di antara sebutan dan ingatan. Ketika seseorang melihat atas kejadian langit

dan bumi atau pergantian siang dan malam langsung dia teringat kepada yang menciptakan.

Bakteri asam laktat dapat diperoleh dengan memanfaatkan sumber-sumber yang mengandung bakteri asam laktat. Salah satu sumber yang bisa dimanfaatkan untuk mengisolasi bakteri asam laktat adalah fermentasi Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) Penelitian ini penting dilakukan untuk mendapatkan informasi terkait bakteri asam laktat yang terdapat dalam fermentasi Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.), yang dapat dimanfaatkan sebagai ilmu pengetahuan khususnya dibidang mikrobiologi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apa saja jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) ?
2. Apakah isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) apa yang terdapat di Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.)

2. Untuk mengetahui isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu :

1. Bakteri Asam Laktat (BAL) terdapat dalam Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.)
2. Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) memiliki kemampuan dalam menghambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang mikrobiologi pangan berkaitan dengan informasi tentang bakteri asam laktat yang terdapat pada Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.)
2. Keberadaan BAL dapat memberikan manfaat dalam segala bidang kesehatan, makanan dan minuman.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Nanas yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Pasar Landungsari di Desa Landungsari, Lowokwaru, Malang.

2. Bakteri yang diamati adalah semua jenis bakteri asam laktat yang ada pada Nanas.
3. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Nanas yang sudah difermentasi.
4. Media tumbuh bakteri yaitu MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*).
5. Teknik yang digunakan dalam mengisolasi bakteri yaitu dengan cara pengenceran bertingkat yang diinokulasikan pada MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dengan cara *pour plate*.
6. Teknik dalam mengidentifikasi bakteri dengan cara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia meliputi pewarnaan gram, pewarnaan endospore, uji katalase, uji fermentasi dan uji antibakteri.
7. Isolat mikroba patogen sebagai bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Escherichia coli* (Gram positif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram negatif) yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Metode uji aktivitas antibakteri dengan difusi cakram dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar cakram menggunakan jangka sorong

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanas (*Ananas comosus*)

Allah SWT sebaik-baiknya pencipta telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang terdapat di bumi ini, setiap tumbuhan memiliki karakteristik yang beranekaragam jenisnya. Seperti morfologinya yang jika dilihat dapat membedakan antara satu tumbuhan dengan tumbuhan yang lainnya. Terkait tentang keanekaragaman jenis tumbuhan yang ada di bumi, Allah SWT berfirman dalam surah al-An'am (6): 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ
مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّحْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ
مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ
يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An'am 6: 99).

Berdasarkan ayat diatas Allah SWT menerangkan bahwasannya Allah telah menumbuhkan bermacam-macam tumbuhan diantaranya yang memiliki ciri khas warna, rasa dan memiliki berbagai macam manfaat yang berbeda-beda. Menurut Al-Jazairi (2008), dalam ayat ini Allah SWT menegaskan pada lafadz “la`āyātil liqaumiy yu`minun” menunjukkan bahwa terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah

SWT tersebut yang hanya diketahui, diperhatikan dan diamati oleh orang-orang yang beriman, selalu berfikir dengan memahami tanda-tanda kebesaran Allah SWT.

Tanda-tanda kekuasaan Allah SWT selalu ada untuk orang-orang yang beriman kepada-Nya. Allah SWT menurunkan air hujan dari langit untuk ditumbuhkannya segala macam tumbuh-tumbuhan yang bagi makhluk-Nya akal untuk berfikir. Menurut tafsir as-Sa'di menjelaskan bahwa Allah memerintahkan agar mengambil pelajaran dari-Nya. Dia berfirman “diwaktu pohonnya berbuah dan perhatikan pula kematangannya.” Maksudnya, perhatikan waktu dia muncul dan waktu ia matang dan ranum. Karena hal itu mengandung pelajaran-pelajaran dan tanda-tanda kebesaran Allah sebagai bukti rahmatNya, kekuasaan, karunia dan kemurahanNya, serta kesempurnaan kodrat dan perhatianNya kepada hamba-hambaNya. Akan tetapi tidak semua orang mau memperhatikan dan mengambil pelajaran dan tidak semua yang merenungkan pasti mengetahui rahasia yang dimaksud. Oleh karena itu Allah membatasi pengambilan manfaat dari tanda-tanda kebesaran Allah kepada orang-orang Mukmin. Termasuk buah nanas yang ketika buahnya masih muda memiliki warna hijau dan ketika sudah masak warnanya berwarna kuning. Klasifikasi dari buah nanas menurut Cabi (2019):

Domain: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Monocotyledonae

Order: Bromeliales

Family: Bromeliaceae

Genus: *Ananas*

Species: *Ananas comosus*

Nanas merupakan tanaman buah yang tumbuh sejak berabad-abad lalu. (Nugraheni, 2016). Buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan salah satu jenis buah tropis yang terdapat di Indonesia dengan penyebaran merata dan salah satu tanaman buah yang sudah lama dikenal luas oleh masyarakat. Daunnya berbentuk taji, tepi berduri, dan ada juga yang tidak berduri didalamnya terdapat serat yang banyak sekali untuk talli atau bahan kain. Buahnya bulat panjang dan dagingnya berwarna kuning muda (Akrinisa, dkk 2019). Tanaman ini cukup mudah untuk dibudidayakan dan iklim Indonesia memiliki iklim yang sangat cocok untuk pertumbuhan buah nanas (Astoko, 2019). Buah nanas banyak dimanfaatkan oleh sebagian besar masyarakat untuk kebutuhan konsumsi. Selain dikonsumsi dalam kondisi segar, nanas juga banyak digunakan sebagai bahan baku industri perkebunan dengan berbagai hasil produk macam olahan nanas seperti selai, manisan, sirup, dodol, keripik, buah kaleng dan lain-lain (Kusuma dkk, 2019).

Nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.) merupakan buah tropis buah dari famili Bromeliaceae dengan nilai ekonomi tinggi setelah pisang. Indonesia adalah salah satu yang terbesar negara penghasil nanas secara global, setelah Kosta Rika, Filipina, dan Brasil (Rosmaina, *et. al* 2021). Produksi nanas di Indonesia meningkat dari 1,8 juta ton pada tahun 2018 menjadi 2,19 juta ton pada 2019, atau meningkat 22% (FAO 2020).

Nanas terutama dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis karena iklim sedang dan distribusi curah hujan. Tanaman dapat berbuah pada tahap awal setelah berbunga, memungkinkan produksi hasil sepanjang tahun (Shamsudin, Zulkifli, &

Kamarul Zaman, 2020). Volume ekspor nanas begitu besar sehingga Indonesia menjadi negara pengekspor nanas terbesar di dunia hingga awal tahun 2012 (Wicaksono, 2015). Peningkatan ekspor buah nanas dalam kaleng juga terus meningkat seiring dengan peningkatan permintaan terutama oleh negara Amerika Serikat, Jepang, Belanda, dan negara – negara Eropa

Umur simpan nanas dapat diperpanjang dengan menyimpan buah dalam kondisi dan suhu penyimpanan tertentu serta perlakuan khusus untuk menghindari kontaminasi mikroorganisme (Ismail, Abdullah, & Muhammad, 2018). Selain itu sering berkembangnya kemajuan teknologi, telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengubah buah-buahan yang mudah rusak menjadi produk pokok dengan umur simpan yang lebih lama telah dilakukan untuk mengurangi penurunan kualitas kualitatif buah selama penyimpanan. Karena telah banyak terbukti tentang tingginya nilai gizi dan manfaat dalam nanas, ini adalah kesempatan baik bagi petani buah untuk mendapatkan akses ke pasar domestik dan internasional untuk buah tersebut.

Tingkat kematangan, jenis kultivar, kondisi iklim serta penanganan pasca panen merupakan beberapa faktor yang berkontribusi terhadap sifat kimia dan biokimia yang ada pada nanas (Ancos, Sanchez-Moreno, & Gonz´alez-Aguilar, 2016; Chaumpluk, Chaiprasart, & Vilavan, 2012). Dalam beberapa tahun terakhir, nanas mendapat banyak perhatian karena komposisi nutrisinya berkontribusi pada potensi penggunaan sebagai makanan fungsional dan berbagai produk berbasis nanas. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Laseka dan Husein (2018). mengidentifikasi bahwa nanas kaya akan senyawa ester termasuk methyl-2-methylbutanoate, methyl hexanoate, methyl-3- (methylthiol)-propanoate, methyl

octanoate, dan 2-methoxy-4-vinyl phenol yang berasosiasi dengan kualitas rasa dari berbagai jenis dari varietas nanas. Menurut Manarisong (2015), Nanas termasuk buah yang mempunyai kandungan sangat kompleks, kaya akan mineral baik makro maupun mikro, zat organik, air, vitamin dan kandungan senyawa lain seperti Klor, Iodium, Fenol, Flavanoid dan Enzim Bromelain.

2.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat merupakan bakteri gram positif, endospora-negatif, katalase-negatif, biasanya non-motil dan penghasil komponen antimikroba. Zat antimikroba BAL seperti asam laktat, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin dapat menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Kemampuan BAL dalam menghasilkan komponen antimikroba dapat digunakan sebagai pengawet alami (Nurhikmayani, 2019). BAL tersebut dikenal dengan GRAS (*Generally Regarded as Safe*) umumnya dianggap aman karena tidak beracun dan tidak menghasilkan toksin, sehingga tidak berbahaya bagi kesehatan, bahkan mikroorganisme tersebut bermanfaat bagi kesehatan (EFSA, 2012). BAL juga merupakan bakteri yang memiliki banyak manfaat antara lain berperan dalam fermentasi asam laktat dan probiotik, juga dapat menghambat pertumbuhan patogen dan bakteri pembusuk menghasilkan hidrogen peroksida yang bersifat antibakteri menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibiotik (Bulu, dkk 2019).

Makhluk kecil seperti bakteri juga disebutkan dalam QS. Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi :

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan : "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.*” (QS.Al-Baqarah : 26)

Ibnu Katsir menafsirkan bahwa kata (yang lebih rendah dari itu), menunjukkan bahwa Allah SWT yang Maha Kuasa untuk menciptakan apa saja, yaitu penciptaan apapun dengan obyek apa saja, baik yang besar maupun yang lebih kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu pun yang Dia ciptakan meskipun hal itu kecil. Ada yang mengartikan, tidak takut untuk membuat perumpamaan apa saja baik dalam bentuk yang kecil maupun yang besar.

Pendapat ini diperkuat oleh hadist yang diriwayatkan oleh imam muslim, dari Aisyah *radhialahu 'anha*, bahwa Rasulullah SAW pernah bersabda :

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: مَا مِنْ مُسْلِمٍ يُشَاكُ شَوْكَةً فَمَا فَوْقَهَا إِلَّا كُتِبَتْ لَهُ بِهَا دَرَجَةٌ وَ مُحِيتَ عَنْهُ بِهَا حَطِئَةٌ مُسْلِم

Artinya: *Rasulullah Shalallahu ﷺ telah bersabda, "Tidaklah dari seorang Muslim yang tertusuk duri hingga apa-apa yang lebih berat darinya, kecuali dicatat baginya derajat dan dihapus darinya dengan hal itu kesalahan (Riwayat Muslim).*

Hadist di atas menjelaskan bahwa Allah tidak pernah menganggap remeh sesuatu apapun yang telah diciptakan-Nya sebagai perumpamaan, meski pun hal yang hina dan kecil. Sebagaimana Dia tidak memandang enteng penciptaannya,

Hal ini dapat diumpamakan dengan makhluk sekecil bakteri, terutama bakteri baik yang memiliki banyak manfaat. Didalam Al-Qur'an terdapat banyak perumpamaan (Ibnu Katsir, 2002).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri probiotik bersifat non patogen, menghasilkan asam laktat, kelompok jenis bakteri Gram positif, berbentuk coccus (bulat), atau bacillus (batang), tidak membentuk spora, katalase negatif dan oksidase positif, proses fermentasi menghasilkan asam laktat. Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan menfermentasikan gula menjadi asam laktat, karena produksi asam laktat oleh BAL berjalan dengan cepat, maka pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat (Putri, 2018).

Bakteri asam laktat merupakan kelompok mikroba yang berperan dalam proses fermentasi pangan. Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu asam laktat, etanol, hidroperoksida dan bakteriosin. Metabolit yang dihasilkan oleh bakteri tersebut merupakan agen yang dapat digunakan dalam membunuh bakteri. Salah satu yang digunakan sebagai antimikroba yaitu bakteriosin yang merupakan suatu senyawa peptida. Selain itu asam laktat yang di produksi oleh BAL dapat menurunkan pH lingkungan. pH yang rendah dapat menghambat kontaminasi mikroba pembusuk dan juga membunuh mikroba patogen (Sasmita, 2018).

Asam laktat dapat diproduksi melalui sintesis kimia maupun proses fermentasi. Proses sintesis asam laktat terjadi melalui hidrolisa laktonitril yang berasal dari asetaldehida dan hidrogen sianida. Sementara itu, pembentukan asam laktat secara biologis dapat dihasilkan satu isomer atau campuran isomer asam

laktat yang berbeda tergantung oleh mikroorganisme, substrat, dan kondisi pertumbuhan yang digunakan (Maryanty, 2019).

Tabel 2. 1 Habitat Bakteri Asam Laktat

Habitat	Kelompok Bakteri	Aktivitas atau produk
Produk sayuran	<i>Sreptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus plantarum</i>	Pikel, sauerkraut
Produk susu	<i>Sreptococcus lactis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>Leuconostoc mesentroides</i> , <i>L. lactis</i>	Keju. Susu, yoghurt
Sistem pencernaan (oral dan usus)	<i>Sreptococcus salivarius</i> <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	Flora normal <i>dental caries</i>
Vagina mamalia	<i>Sreptococcus faecalis</i> <i>Sreptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.	Patogen dan saluran urin Flora normal

Sumber : Syukur (2017)

2.2.1 *Lactobacillus*

Lactobacillus sp merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang banyak terlibat dalam pangan hasil fermentasi terutama yang melibatkan proses fermentasi spontan seperti bekasam, sawi asin, sourkraut, dan tempoyak. Bakteri asam laktat, termasuk *Lactobacillus* sp., diketahui aman digunakan dalam proses fermentasi pangan. Secara umum, bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* mempunyai karakteristik Gram positif, katalase negatif, acid-tolerant, nonspora, kandungan G+C rendah, bentuk sel rods atau coccobacilli, aero-toleran atau anaerobic, fastidious dan mampu menghasilkan asam laktat dari substrat glukosa (Widowati dkk, 2014).

Lactobacillus merupakan genus terbesar dalam kelompok BAL dengan hampir 80 spesies berbeda. Jenis *Lactobacillus* dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Spesies bakteri yang tergolong

homofermentatif misalnya *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, dan *L. thermophilus*, sedangkan spesies bakteri yang tergolong heterofermentatif adalah *L. Fermentum* (Wardinal dkk, 2019).

2.2.2 Leuconostoc

Genus *Leuconostoc* yang memiliki ciri-ciri Gram positif, bentuk sel coccus (bulat), heterofermentatif katalase negatif, nonmotil, tumbuh pada suhu 15° C dan 45° C, tidak menghasilkan spora, anaerob fakultatif, dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 2%, 4% dan tidak tumbuh pada NaCl 6,5 %. *Leuconostoc* sp. dapat berpotensi sebagai starter makanan fermentasi dan sebagai agen probiotik karena dapat tumbuh pada pH 1 setelah inkubasi 4 jam, memiliki aktivitas antimikroba, dapat menghasilkan asam hingga pH akhir media setelah inkubasi 48 jam sebesar 4,23 dan tidak memiliki aktivitas enzim lipase yang dapat menyebabkan pembusukan makanan (Sari dkk., 2012). Bakteri *Leuconostoc* biasanya terbentuk secara berpasangan atau rantai pendek (Kurnia, 2020).

2.2.3 Pediococcus

Genus *Pediococcus* berbentuk bulat, membentuk tetrad dan tidak menghasilkan gas. Menurut *Bergey's Manual Identification*, *Pediococcus* dapat dibedakan dari isolat berbentuk bulat lainnya dari ciri membentuk tetrad dan tidak menghasilkan gas. *Pediococcus* dicirikan juga dengan kemampuan isolat untuk tumbuh pada pH 8,6 dan pH 4,2, serta tumbuh pada suhu 45°C (Wikandari, 2012). Bakteri *Pediococcus* sp. bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, tidak menghasilkan nitrat. Selain itu *Pediococcus* sp. berbentuk bulat berantai pendek, beberapa berpasangan dan tidak membentuk rantai (Tjahjaningsih dkk., 2016).

2.2.4 Streptococcus

Streptococcus memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat dengan tepian rata dan warna koloni putih sampai putih kekuningan, sel bakteri berbentuk coccus dengan gram positif, mampu memfermentasikan sukrosa dan laktosa, menghasilkan gas pada umumnya tersusun berpasangan atau dalam bentuk rantai. Semua spesiesnya bersifat nonmotil, nonspora dan fakultatif anaerob. Tidak dapat mereduksi nitrat, dapat memfermentasikan glukosa dengan produk utama adalah asam laktat, dan dapat mendegradasi selulosa pada limbah pertanian (Supriyatna dkk, 2012).

2.3 Fermentasi Bakteri Asam Laktat

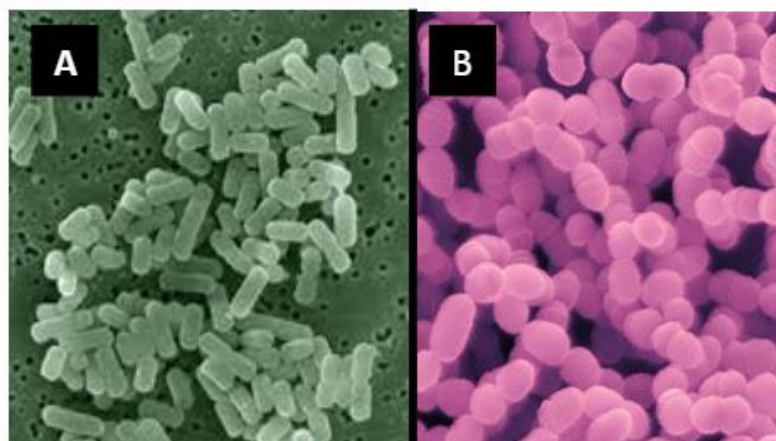
Fermentasi laktat adalah proses bakteri yang terjadi selama produksi berbagai produk makanan. Ini memberikan produk akhir dengan aroma dan tekstur yang khas dan memainkan peran penting dalam keamanan dan kebersihan makanan. Di antara bakteri yang bertanggung jawab untuk fermentasi laktat adalah bakteri asam laktat, yang menunjukkan keanekaragaman morfologi dan fisiologis yang tinggi. Istilah bakteri asam laktat muncul pada awal abad kedua puluh untuk menggambarkan kelompok bakteri heterogen yang saat ini didefinisikan sebagai bulat (cocci) atau berbentuk batang (basil), gram positif, katalase-negatif, tidak bergerak, tidak bersporulasi, anaerob, aerotoleran dan penghasil asam laktat (metabolit utama yang dihasilkan selama fermentasi gula oleh bakteri ini) (Muñoz, 2011).

2.4 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan memfermentasikan gula menjadi asam laktat, karena produksi asam laktat oleh BAL berjalan dengan cepat,

maka pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat (Putri, 2018). Urnemi dkk. (2012) menyatakan, awalnya BAL terdiri dari 4 genus yakni *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Namun, seiring berkembangnya ilmu di bidang molekuler, tahun 1980-an genus dari bakteri asam laktat berkembang menjadi 20 genus. BAL secara umum tidak bersifat berbahaya atau patogen dan termasuk dalam jenis mikroorganisme yang aman (food grade microorganism).

Karakterisasi morfologi BAL biasanya dilakukan dengan dua cara yaitu makroskopik dan mikroskopik. Karakterisasi morfologi makroskopik BAL dilakukan dengan melihat langsung morfologi isolat bakteri yang tumbuh pada medium. Sedangkan, karakterisasi morfologi mikroskopik BAL dengan cara uji gram dan pewarnaan endospora (Romadhon, 2012).



Gambar 2. 1 Morfologi sel BAL berbentuk basil dan coccus (A). *Lactobacillus* (B). *Streptococcus*

Secara alami beberapa habitat yang cocok untuk pertumbuhan BAL adalah produk-produk susu baik yang segar maupun yang difermentasi, bagian tanaman baik yang segar maupun yang telah membusuk, saluran pencernaan hewan dan manusia.

2.4.1 Pewarnaan Gram

Identifikasi secara mikroskopis salah satunya dilakukan dengan pewarnaan Gram. Berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri dibagi menjadi dua yaitu Gram positif dan Gram negatif (Wulandari dan Desi., 2019). Hasil pewarnaan gram menunjukkan adanya perbedaan warna gram yang dihasilkan dari beberapa isolat bakteri. Bakteri gram positif akan menghasilkan warna keunguan sedangkan bakteri gram negatif menghasilkan warna merah. Meskipun telah diberi larutan alkohol, bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan zat warna ungunya. Hal ini terjadi karena kandungan peptidoglikan pada Gram positif cukup banyak sehingga mampu mempertahankan warna ungu (Rimadhini dkk., 2020).

Dinding Sel Bakteri Gram Negatif Dinding sel bakteri Gram negatif ini tersusun atas peptidoglikan, namun peptidoglikan yang terkandung tidak sebanyak pada bakteri Gram positif. Pada bagian luar peptidoglikan terdapat membran luar yang tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid. Selain itu sel bakteri ini juga mengandung lipopolisakarida. Dengan kandungannya yang dimiliki sel bakteri Gram negatif ini menjadikannya lebih kuat terhadap antibiotika, namun ketahanan mekanisnya lemah karena kadar peptidoglikan yang dikandung sedikit. Sehingga perbedaan antara Gram positif dan Gram negatif adalah komposisi yang menyusun dinding selnya (Campbell, 2008).

Bakteri asam laktat masuk dalam golongan Gram positif hal ini dikarenakan BAL tidak mengalami dekolorisasi dan tetap mengikat warna ungu kristal violet pada tahap akhir pewarnaan. Bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah

sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal (Nurhidayati, 2015).

2.4.2 Pewarnaan Endospora

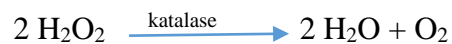
Endospora merupakan struktur tambahan dan bentuk kondisi inaktif (dormant) dari bakteri yang terbentuk di dalam sel dan memberikan perlindungan terhadap bakteri dari lingkungan yang tidak menguntungkan. LAYLI Pengujian pewarnaan spora bertujuan untuk membedakan endospora dengan sel vegetatif, sehingga tampak jelas perbedaannya (Damayanti dkk., 2018).

Spora yang dihasilkan oleh bakteri pada pewarnaan akan menyerap pewarna malachit green, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah dikarenakan menyerap perwana safranin. Layli dkk (2013) mengatakan bahwa Non endospora merupakan salah satu karakteristik umum yang lain dari BAL. Bakteri asam laktat tidak membentuk endospora sehingga ketika pengamatan hasil pewarnaan endospora, maka sel vegetatif hanya tampak berwarna merah muda tanpa warna hijau yang mengindikasikan terbentuknya endospora, diketahui bahwa semua isolat bakteri yang diperoleh tidak membentuk endospora (non endospora).

2.4.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase seta toleransi isolat terhadap oksigen. Enzim katAlase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogen

peroksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim katalase terhadap H_2O_2 adalah (Raharjo, 2012) :



Uji katalase merupakan salah satu uji biokimia untuk konfirmasi BAL. Bakteri asam laktat termasuk ke dalam jenis bakteri dengan katalase negatif yaitu tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air. Katalase adalah enzim yang dapat memecah H_2O_2 menjadi O_2 dan air. Menurut Ismail *et al.* (2018), bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Beberapa bakteri membutuhkan oksigen untuk membentuk hidrogen peroksida, yaitu hasil samping dari metabolisme aerobik yang toksik.

2.4.4 BAL Homofermentatif dan Heterofermentatif

Secara fisiologis dan berdasarkan aktivitas metabolismenya, bakteri asam laktat dikelompokkan ke dalam dua group, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentasi (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat) dan heterofermentatif (hasil akhir berupa asam laktat, asam asetat, etanol dan CO_2), secara garis besar, keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat akan diubah menjadi laktat (atau asam laktat) dan diikuti proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD^+ . Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim – enzim yang berperan di dalam jalur metabolisme glikolisis (Yanti, 2013)

Heterofermentatif pada BAL tidak menggunakan aldolase dan heksosa isomerase tetapi menggunakan enzim fotoketolase dan menghasilkan CO_2 .

Metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa (golongan karbohidrat yang terdiri dari 6 atom karbon) akan melalui jalur heksosa monofosfat atau pentosa fosfat. Sedangkan homofermentatif melibatkan aldolase dan heksosa aldolase namun tidak memiliki fosfoketolase serta sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan CO₂. (Yanti, 2013).

Kondisi pertumbuhan yang berbeda bisa menghasilkan produk akhir fermentasi yang berbeda, sebagai akibat dari berubahnya metabolisme piruvat dan penggunaan elektron akseptor eksternal seperti oksigen atau senyawa organik. Genus *Lactobacillus* terdiri dari 70 spesies dan dikelompokkan menjadi 3 sub grup, kebanyakan homofermentatif, namun ada juga yang heterofermentatif. *Lactobacillus* secara umum lebih tahan terhadap asam dibandingkan dengan genus bakteri asam laktat lainnya (Syukur, 2017).

Tabel 2.2 Karakteristik 3 sub grup genus *Lactobacillus* sp.

Karakteristik	Spesies
<p>Homofermentatif</p> <p>Produk utama asam laktat (> 85% dari glukosa) tidak menghasilkan gas dari glukosa, mempunyai enzim aldolase, tidak mempunyai fosfoketolase</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tumbuh pada 45° C, tetapi tidak pada 15° C, sel berbentuk batang panjang. 2. Tumbuh pada 15° C, beberapa tumbuh pada 45° C, batang pendek, mempunyai aldolase dan fosfoketolase, fakultatif heterofermentatif. 	<p><i>L. Acidophilus</i></p> <p><i>L. Salivarius</i></p> <p><i>L. Helveticus</i></p> <p><i>L. Delbrueckii</i></p> <p><i>L. Plantarum</i></p>
<p>Heterofermentatif</p> <p>Menghasilkan kira-kira 50% asam laktat dari glukosa, menghasilkan CO₂ dan</p>	<p><i>L. Fermentum</i></p>

Tabel 2.2 Lanjutan

etanol, tidak mempunyai enzim aldolase, mempunyai fosfoketolase, berbentuk batang panjang dan pendek.	<i>L. Reuteri</i>
	<i>L. Brevis</i>
	<i>L. Buchneri</i>
	<i>L. Reuteri</i>

Sumber : Syukur (2017)

Tabel di atas memperlihatkan bahwa fermentasi homolaktat pada *Lactobacillus* menghasilkan ekuimolar konsentrasi asam laktat dari glukosa, sedangkan heterolaktat menghasilkan lebih dari 50% asam laktat dan juga etanol dan CO₂ sehingga mudah untuk membedakan antara homofermentatif dan heterofermentatif berdasarkan pembentukan gas selama pertumbuhan genus *Lactobacillus* sp. Dalam media yang mengandung glukosa. Demikian juga dengan mengukur nilai keasaman (pH) kultur medium yang tentunya lebih rendah bagi homofermentatif dibandingkan dengan heterofermentatif, (Syukur, 2017).

2.5 Peranan Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang paling banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, karena mempunyai beberapa keunggulan jika dibandingkan kelompok lainnya (Handayani, 2016). BAL juga diketahui dapat menghasilkan senyawa antioksidan (Berliyanti, dkk 2020). Bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai agensia probiotik juga dapat dimanfaatkan sebagai kultur starter proses fermentasi sehingga produk fermentasi yang dihasilkan dapat berfungsi sebagai pembawa agensia probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme yang dapat memberikan efek menguntungkan pada kesehatan

manusia. Beberapa studi melaporkan efek probiotik untuk mencegah dan mengurangi penyakit akut diare, peradangan, hipertensi, dan diabetes (Manik, *et.al.*, 2021). Selain itu, probiotik bermanfaat dalam mengatur keseimbangan mikroba pada saluran pencernaan dan menghambat perkembangan mikroba patogen pada saluran pencernaan (Tjahjaningsih, dkk 2016).

Semua bakteri asam laktat melakukan fermentasi asam sitrat menghasilkan senyawa diasetil yang menghasilkan aroma. Bakteriosin, BAL menghasilkan bakteriosin yaitu peptida yang bersifat sebagai bakteriosidal, maka BAL dinamakan juga dengan probiotik. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri pembusuk akan terhambat (Urnemi, 2012).

Secara umum proses fermentasi pangan melibatkan berbagai jenis mikroorganisme, seperti bakteri, kapang, dan ragi yang tumbuh dan melakukan aktivitas bersama dalam bahan pakan. Sebagian besar menggunakan asam laktat (BAL). Menggunakan BAL sebagai kultur starter menunjukkan beberapa manfaat seperti mempercepat proses dan memastikan kualitas dan keamanan produk. Selama fermentasi, BAL menghasilkan asam laktat yang menurunkan pH dan membatasi pertumbuhan mikroorganisme patogen, melepaskan enzim hidrolitik (lipase dan protease), serta mampu memecah makromolekul, seperti lipid dan protein, sehingga menghasilkan prekursor dari aroma tertentu. Hal ini membuktikan bahwa BAL memiliki potensi untuk dijadikan starter kultur dan juga beberapa manfaat lain untuk kesehatan (Antara, 2019).

2.6 Antimikroba

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk dinegara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Radji, 2018). Antibiotik atau antibakteri merupakan obat yang paling banyak digunakan pada penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Setiabudy, 2012). Salah satu syarat suatu produk dikategorikan sebagai probiotik adalah produk tersebut memiliki aktivitas antimikroba (Rizal, dkk 2020).

Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya. Antimikroba yang digunakan dalam pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri patogen disebut antibiotik. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri tertentu) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Engelkirk & Duben-Engelkrik, 2011). Secara terapeutik, antibiotik menyerang organisme infeksius dan membunuh bakteri lain yang tidak menyebabkan penyakit. Antibiotik dibagi menjadi dua golongan, yaitu bakteristatik dan bakterisidal (Amin, 2014).

2.7 Bakteri Uji

2.7.1 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk kelompok bakteri Enterobacteriaceae yang sering mengkontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan diare (Prasetya, dkk 2019). Diare merupakan penyakit yang sering terjadi pada masyarakat, terutama di negara berkembang. Diare akut adalah terjadinya feses cair atau encer 3 sampai 4 kali sehari (Nasri, *et.al* 2021). *Escherichia coli* ditemukan di usus manusia dan

hewan. Bakteri ini mudah menyebar dengan mencemari air dan makanan (Sapitri dan Afrinasari 2019). Menurut Cabi (2019), taksonomi dari *Escherichia coli* adalah:

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

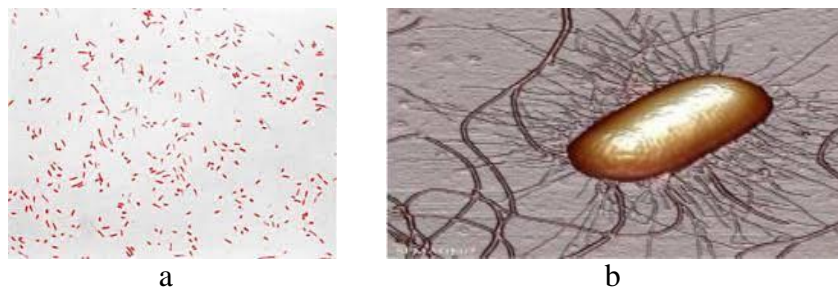
Order: Enterobacteriales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: *Escherichia*

Species: *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah anggota famili Enterobacteriaceae, yang termasuk gram negatif, berbentuk batang anaerobik fakultatif. Bakteri *Escherichia coli* (memiliki metabolisme fermentasi dan respirasi) dan tidak menghasilkan enzim oksidase. Sel *E.coli* biasanya berukuran lebar 1,1-1,5 mm, panjang 2-6 mm dan berbentuk batang lurus tunggal. Mereka dapat berupa motil atau nonmotil dan ketika motil menghasilkan flagela lateral, bukan polar. Selain flagela, banyak strain menghasilkan pelengkap lain seperti fimbriae atau pili, yang merupakan struktur protein (atau pelengkap atau serat) yang memanjang keluar dari permukaan bakteri dan berperan dalam perlekatan pada permukaan termasuk sel lain atau jaringan inang (Desmarchelier, *et.al.*, 2016). Morfologi bakteri *E. coli* dapat di lihat pada gambar 2.2 berikut ini :



Gambar 2.2 Morfoligi Bakteri *Escherichia coli*; a) Pengamatan Hasil Pewarnaan Gram (Prasiddhant, 2015); b) Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron (Sari, 2015)

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, dan diklasifikasikan sebagai anggota famili *Enter-obacteriaceae* dalam kelas *Gammaproteobacteria*. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang dipelajari dengan baik (Jang, *et.al.*, 2017). *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati dkk, 2016).

Escherichia coli memiliki antigen lipopolisakarida O strain-spesifik pada dinding selnya (setidaknya 188 antigen O saat ini dikenali) dan flagela atau antigen H jika ada (setidaknya 53 jenis H dikenali). Ada juga banyak antigen polisakarida (K) kapsuler yang berbeda. *Escherichia coli* di serotipe berdasarkan kombinasi antigen O, H, dan K, meskipun umumnya hanya Jenis O dan H tercantum. Sekuens genom *E. coli* nonpatogen terdiri dari 4,6 juta basa, sedangkan isolat patogen memiliki genom yang lebih besar sekitar 5,4 juta basa. Informasi genomik semacam itu memberikan dasar untuk memahami hubungan antara kelompok patogen *E. coli* yang berbeda, potensi isolat menyebabkan penyakit dan kemampuan untuk mentransfer materi genetik yang dapat menyebabkan munculnya jenis *E. coli* baru atau yang lebih ganas (Desmarchelier, *et.al.*, 2016).

2.7.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *S. aureus* menurut Cabi (2019) sebagai berikut :

Domain: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Class: Bacilli

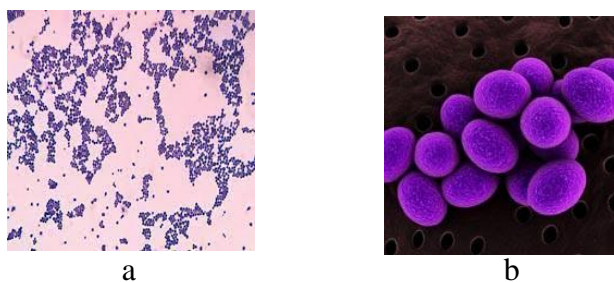
Order: Lactobacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah Gram-positif dan nonmotile bakteri kokus yang paling umum di jaringan lunak dan kulit. Dalam genus, ada 39 spesies yang valid. Spesies patogen hewan dan manusia termasuk *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. pseudintermedius*, *S. equorum*, *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. simulans*, *S. saprophyticus*, *S. succinus*, *S. warneri*, *S. vitulinus*, *S. pasteurii*, *S. epidermidis*, dan *S. lentus*. *S. aureus* merupakan mikroflora normal pada kulit, hidung, dan selaput lendir manusia di mana kolonisasi terjadi lebih umum daripada infeksi. Infeksi kulit dapat terjadi jika penghalang kulit terganggu atau rusak. (Bilung, *et.al.*, 2018). Morfologi bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2.3 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*: a) Pengamatan Hasil Pewarnaan Gram; b) Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron (Malelak *et.al.*, 2015).

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk kokus memiliki Gram-positif, katalase-positif, berdiameter 0,5-1,5 μm , yang membentuk kelompok sel. *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai karakteristik 'seikat anggur' jika dilihat secara mikroskopis. Pada media laboratorium memiliki optimum suhu untuk pertumbuhan 37 °C . (Hudson J.A, 2014). *Staphylococcus aureus* (S.aureus) merupakan flora normal tubuh manusia yang bersifat pathogen oportunistik. Bakteri tersebut dikenal sebagai penyebab berbagai macam penyakit infeksi mulai dari infeksi kulit dan jaringan lunak yang sering terjadi di komunitas sampai dan jaringan lunak yang sering terjadi di komunitas sampai penyakit infeksi yang bersifat serius bahkan fatal yang diperoleh di rumah sakit (infeksi nosokomial) seperti osteomyelitis, *necrotizing pneumonia*, dan bakteremia (Santosaningsih, dkk 2013). *Staphylococcus aureus* bersifat patogen dan invasif, menghasilkan enzim koagulase, pigmen kuning serta bersifat hemolitik (Gunawan, dkk 2019).

Staphylococcus aureus adalah suatu bakteri yang memproduksi enterotoksin penyebab keracunan (Widianingsih dan Setyorini, 2019). Keracunan ditandai dengan gejala mual, muntah, kejang perut, bahkan sampai diare. Bakteri tersebut sering ditemukan pada makanan-makanan, merupakan bakteri coccus Gram positif, dan termasuk dalam family Micrococcaceae. Tumbuh secara anaerobik fakultatif dengan membentuk kumpulan sel-sel seperti buah anggur dan umum dijadikan indikator higienitas pengolahan makanan. *Staphylococcus aureus* tahan terhadap kadar garam dan memproduksi koagulase (Ahmetagic et al.,2013; Frey et al., 2013).

2.8 Media Selektif MRSA dan MRSB

Bakteri asam laktat biasanya ditumbuhkan pada media de Mann Rogose and Sharpe (MRS). Media MRS merupakan media spesifik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Safitri, 2016). Media MRSA dan media MRSB merupakan media selektif yang hanya dapat menumbuhkan bakteri asam laktat (BAL) tetapi kedua media ini digunakan pada tujuan yang berbeda. Media MRSA digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi isolat bakteri asam laktat yang tumbuh berkoloni sedangkan media MRSB merupakan media berbentuk cair yang digunakan untuk memproduksi dan memudahkan BAL untuk melepaskan bakteriosin pada media cair tersebut (Ningsih, 2018).

MRSA didesain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat termasuk genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*. Ini dikarenakan media MRSA mengandung beberapa komponen yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri tersebut. Media MRSA mengandung dekstrosa, ekstrak daging, ekstrak ragi, ammonium sitrat, magnesium sulfat, pepton, natrium asetat, dikalium fosfat, tween 80 dan mangan sulfat. Kandungan ammonium sitrat pada pH rendah menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat. Dikalium fosfat dan natrium asetat merupakan dapar untuk menjaga pH tetap rendah, sementara tween 80 adalah pelarut zat-zat lain. Mangan dan magnesium sulfat merupakan sumber dari ion dan sulfat (Sari dkk, 2016). Pada media MRS digunakan glukosa sebagai sumber karbon dengan konsentrasi 20 g/L. Karbohidrat merupakan sumber energy utama pertumbuhan bakteri asam laktat. Sehingga pertumbuhan dan aktivitas metabolismenya dipengaruhi oleh sumber tersebut (Subagiyo, 2015). Untuk setiap MRS broth (deMann Rogosa Sharp) yang digunakan setiap 1 liter medianya

mengandung: pepton protease No. 3 sebanyak 1%; beef extract 1%; ekstrak yeast 0,5%; polisorbat 80 0,1%; ammonium sitrat 0,2%; Na asetat 0,5%; magnesium sulfat 0,01%; mangan sulfat 0,005%; dan dikalium fosfat 0,2% (Suhartatik, 2014).

Tabel 2.3 Medium MRSA

Ingredients	Gms / Litre
Proteose peptone	10.000
HM Peptone B #	10.000
Yeast extract	5.000
Dextrose (Glucose)	20.000
Tween 80 (Polysorbate 80)	1.000
Ammonium citrate	2.000
Sodium acetate	5.000
Magnesium sulphate	0.100
Manganese sulphate	0.050
Dipotassium hydrogen phosphate	2.000
Agar	12.000
Final pH (at 25°C)	6.5±0.2

Sumber : HiMedia (2020)

2.9 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat diisolasi dari produk fermentasi hewan dan tanaman, seperti pada produk hewani yaitu susu dan olahannya, dan pada saluran pencernaan. Pada buah-buahan dan sayuran, BAL dapat diisolasi dari buah sirsak, nanas, acar, kopi dan kakao fermentasi. Pada biji kopi dan kakao, BAL

berguna untuk meningkatkan kualitas baik segi rasa, warna dan aroma (Urnemi, 2012). Prinsip dari isolasi BAL adalah memisahkan suatu mikroba dari mikroba lainnya sehingga diperoleh kultur murni. Isolasi Bakteri Asam Laktat diawali dengan melakukan inokulasi sampel pada medium pengaya (enrichment) *de Mann, Rogosa, Sharpe Broth* (MRSB) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam desikator. Pengayaan dalam MRSB dapat meningkatkan jumlah koloni BAL secara cepat sehingga jumlahnya lebih banyak. Hal ini terjadi karena MRSB secara umum diaplikasikan sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat dan mempunyai nilai pH optimum untuk pertumbuhan BAL yaitu 5,7 yang dapat menekan pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme lain (Syukur, 2017).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kualitatif meliputi pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia pada isolat bakteri asam laktat yang telah terpilih dan berhasil di isolasi dari Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.), sedangkan penelitian kuantitatif dengan menguji isolat bakteri asam laktat yang digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan mengukur zona hambat yang terbentuk.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 sampai dengan bulan Desember 2021. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab timbulnya perubahan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini jenis BAL dari Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengamatan makroskopik (morfologi koloni berdasarkan bentuk, warna dan

jumlah), pengamatan mikroskopik (pewarnaan Gram dan uji endospora), uji biokimia (uji katalase dan uji tipe fermentasi) dan zona hambat yang didapatkan pada aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini terdiri dari media penanaman dan isolat bakteri dalam Nanas (*Ananas comosus* (L) Merair.) ytu media MRSA (*De Man Rogosa Sharpe Agar*), MRSB (*De Man Rogosa Sharpe Broth*), *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan media penanaman yaitu *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA), suhu inkubasi 37° C.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

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

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Nanas (*Brassica oleracea*), isolat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, media *de Mann Ragosa Sharpe Agar* (MRSA), media *de Mann Ragosa Sharpe Broth* (MRSB), media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), aquades steril, alkohol 70%, spirtus, pewarnaan Gram dan endospora (larutan kristal violet, iodium, entanol 96%, safranin, *malachite* hijau, H₂O₂ 3%) alumunium foil, plastik

wrap, kertas label, tissue, kertas cakram, tissue, kapas dan kantong plastik tahan panas.

3.5 Prosedur kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Semua alat gelas dicuci bersih menggunakan sabun lalu dikeringkan. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas putih dan alat yang lain dapat dibungkus menggunakan aluminium foil. Semua alat yang akan disterilisasikan dimasukkan ke dalam kantong plastik yang berbeda-beda kemudian diikat menggunakan karet gelang. Sterilisasi ini menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm, suhu 121 °C selama 15 menit. Beberapa alat dapat disterilkan dengan alkohol 70% bagi yang tidak tahan dengan panas tinggi (Istini, 2020).

3.5.2 Pengambilan Sampel

Sampel Nanas (*Brassica oleracea*) yang didapatkan dari pasar Landungsari di daerah Malang kemudian, difermentasi terlebih dahulu setelah itu, dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi dan karakterisasi lebih lanjut terkait bakteri asam laktat dan uji antibakteri.

3.5.3 Pembuatan Media

3.5.3.1 Media MRSA

Media *de Mann Ragosa Sharpe Agar* (MRSA) dibuat dengan mengencerkan 13.64 gram *de Mann Ragosa Sharpe Agar* (MRSA) dalam 200 ml aquades. Kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya, Media MRSA dipasankan sampai mendidih sambil diaduk menggunakan stirer hingga bubuk larut merata. Setelah itu media MRSA ditutup menggunakan aluminium foil.

Terakhir media MRSA disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C (HiMedia, 2020).

3.5.3.2 Media MRSB

Media *de Mann Ragosa Sharpe Broth* (MRSB) dibuat dengan mengencerkan 15,66 gram MRSB dalam 200 ml aquades, selanjutnya media MRSB dimasukkan kedalam erlenmeyer. Setelah itu, media dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk menggunakan stirer hingga bubuk larut merata. Lalu media tersebut ditutup menggunakan aluminium foil. Terakhir media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C (HiMedia, 2020).

3.5.3.3 Media Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB)

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

3.5.4 Fermentasi Nanas (*Ananas comosus*)

Nanas pertama-tama dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dipotong-potong menjadi potongan kecil dan ditimbang sebanyak 300 gram, selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah fermentor ditambahkan 350 ml air dan 80 gram gula. Kemudian diinkubasi selama 7 hari dalam keadaan anaerob. Setelah itu hasil fermentasi disaring lalu didinginkan.

3.5.5 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Cairan hasil fermentasi diambil sebanyak 1 ml. Kemudian dilakukan serial pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-8} yaitu dengan mengencerkan 1 ml suspensi sampel ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis 0,85% dan dihomogenkan dengan automatic mixer dan hal ini dilakukan hingga pengenceran 10^{-8} . Pengenceran dilakukan untuk mengurangi padatan bakteri yang ditanam. Isolasi BAL dilakukan secara pour plate. Masing-masing seri pengenceran diambil 1 ml mulai dari pengenceran 10^{-6} hingga 10^{-8} dan dimasukkan ke dalam cawan petri dan diratakan dengan cara menggerakkan cawan petri membentuk angka delapan agar sampel merata. Kemudian ditambahkan ± 15 ml media MRS agar. Setelah medium MRS agar mengeras, cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dan diinkubasi selama 48 jam (Qonita, 2018). Koloni BAL yang berhasil tumbuh pada MRSA akan menghasilkan zona bening yang dapat diamati. Masing-masing koloni yang menghasilkan zona bening selanjutnya dimurnikan dengan metode gores pada media MRS agar dan diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 37°C . Selanjutnya dilakukan subkultur yang diperoleh pada MRSA miring pada tabung reaksi untuk digunakan sebagai isolat uji selanjutnya (Quijal, 2020).

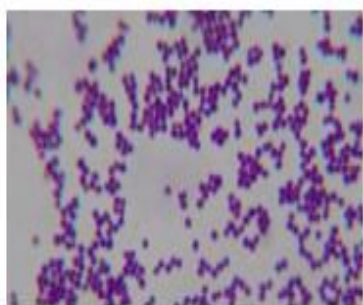
3.5.6 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Karakterisasi yang dilakukan meliputi identifikasi secara makroskopis yaitu mengamati bentuk morfologi koloni, pewarnaan gram dan uji katalase. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati secara langsung bentuk dan morfologi koloni yang tumbuh meliputi bentuk, warna, tepi, permukaan dan elevasi (Quijal, 2020). Secara mikroskopis bakteri asam laktat dapat kita amati: bentuk sel, susunan sel menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x. Sedangkan uji

biokimia BAL dilakukan dengan uji gram, uji katalase, uji endospora serta uji fermentasi (Ramadhon dkk, 2012)

3.5.6.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik yang paling penting yang digunakan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Prinsip pewarnaan Gram yaitu saat bakteri diwarnai dengan kristal violet, bakteri Gram positif akan menyerap zat warna tersebut sehingga berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan melepas zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan kemudian akan menyerap zat warna terakhir yang diberikan yaitu safranin sehingga berwarna merah (Putri dkk, 2018).



a



b

Gambar 3.1 a) Pewarnaan Gram bakteri asam laktat berbentuk coccus; b) Pewarnaan Gram bakteri asam laktat berbentuk basil (10000X)

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara gelas obyek disemprot dengan alkohol 70% sampai tidak terbentuk lapisan minyak kemudian diolesi dengan aquades steril sebanyak dua tetes. Biakan murni bakteri berumur 24 jam diambil sedikit secara aseptis dengan menggunakan jarum ose dan disusupensikan dengan aquades steril yang ada digelas objek. Suspensi kemudian difiksasi dengan cara melewati gelas objek tersebut di atas api bunsen sampai kering. Ditetesi larutan

kristal violet sebanyak 2-3 tetes dan dibiarkan selama 1 menit. Dibilas preparat menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan. Preparat ditetesi larutan iodin selama 1 menit, dilanjutkan dengan pemberian alkohol selama 30 detik. Dibilas hingga warna hilang kemudian dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan. Ditetesi preparat dengan larutan safranin selama 30 detik, dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan. Setelah kering preparat di amati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x, sebelumnya preparat ditetesi dengan minyak emersi terlebih dahulu. Kemudian di amati hasilnya (Moh, 2021).

3.5.6.2 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan dua tetes H_2O_2 3% pada isolat bakteri yang berumur 24 jam di atas kaca objek. Reaksi positif katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung udara. Terbentuk gelembung udara menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Gelas objek diolesi dengan aquades steril sebanyak dua tetes. Biakan murni bakteri yang berumur 24 jam diambil sedikit secara aseptis dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan dengan aquades sebanyak dua ose. Suspensi ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%, selanjutnya diamati pembentukan gelembung udara (positif) yang terjadi pada koloni. Terbentuknya gelembung menandai bahwa bakteri tersebut bersifat aerobik (Moh, 2021).

3.5.6.3 Uji Fermentasi

Uji tipe fermentasi digunakan untuk menggolongkan bakteri asam laktat ke dalam kelompok homofermentatif atau kelompok heterofermentatif. Uji fermentasi dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur bakteri pada MRS cair dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Inkubasi selama 2 hari pada suhu $37^\circ C$.

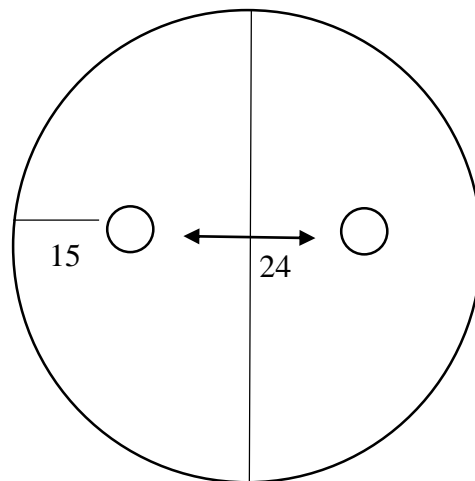
Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya gelembung udara pada tabung durham (Romadhon dkk, 2012).

3.5.6.4 Pewarnaan Endospora

Preparat yang telah difiksasi diletakkan diatas penangas air lalu ditutup dengan kertas saring. Malakit hijau diteteskan dan dibiarkan selama 5 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir. Dilakukan kembali pewarnaan dengan safranin kemudian biarkan selama 60 detik. Preparat dicuci, hasilnya diamati dibawah mikroskop. Endospora akan berwarna hijau sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah (Amaliah dkk, 2018).

3.5.7 Uji Antibakteri

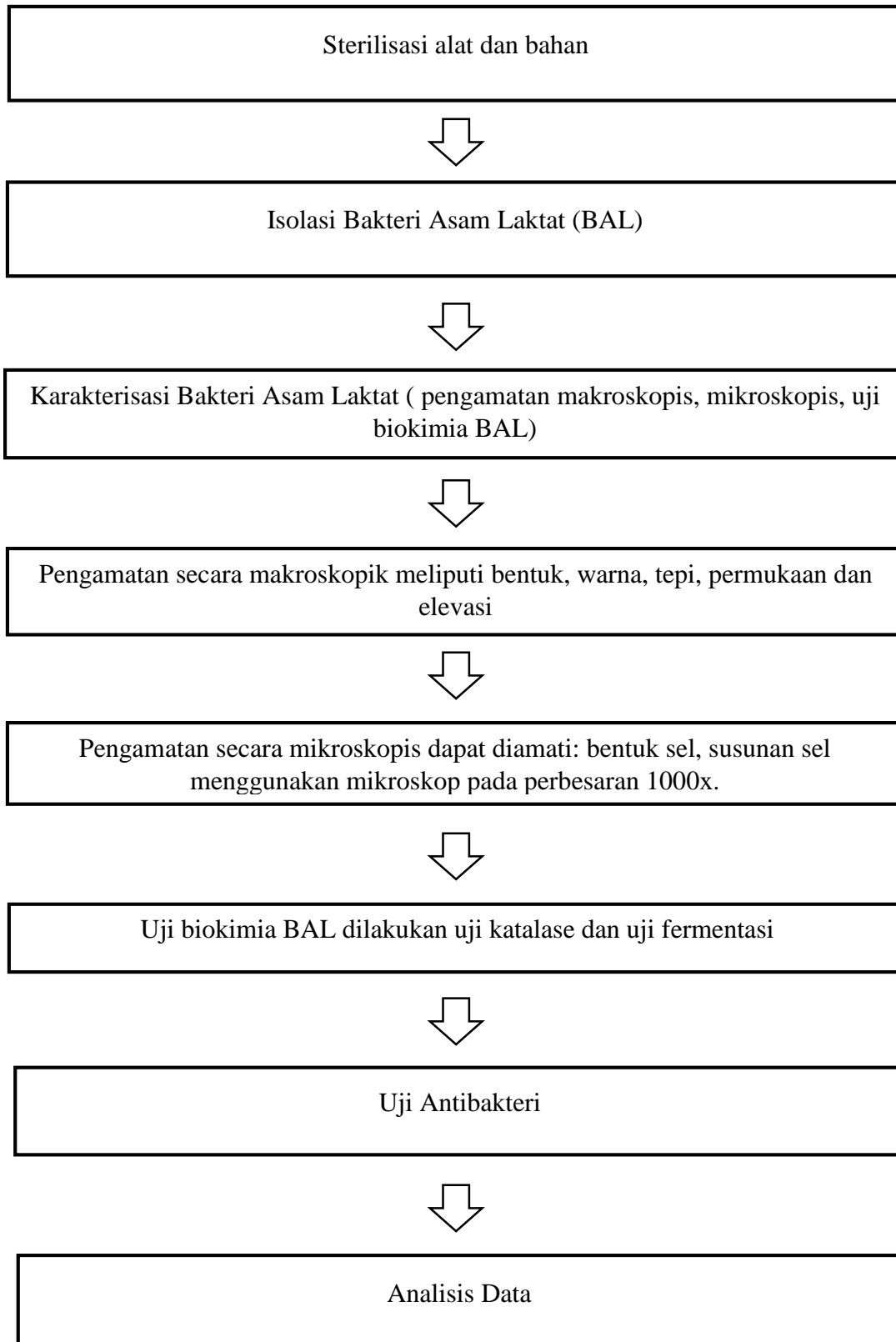
Masing-masing isolat BAL diambil sebanyak 3- 4 ose lalu dilarutkan di dalam 5 ml akuades steril. Selanjutnya kertas cakram berdiameter 6 mm direndam di dalam larutan isolat BAL selama 15 menit. Sebagai kontrol digunakan kertas cakram yang direndam didalam akuades steril. Sebanyak 3-4 ose bakteri patogen dilarutkan di dalam akuades steril dan dihomogenkan, lalu diambil 1 ml larutan bakteri patogen dan disebar di permukaan media MRS, didiamkan selama 5 menit, lalu kertas cakram diletakkan di permukaan media. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram merupakan zona penghambatan BAL terhadap bakteri patogen (Kasi, dkk, 2017). Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang terbentuk menjadi penanda tidak adanya bakteri uji yang tumbuh dan efek anktibakteri dinyatakan positif (Rianto *et al.*, 2015).



Gambar 3.2 Peletakan kertas cakram pada cawan petri

3.6 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil identifikasi disajikan berupa kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif antara lain pengamatan makroskopis (warna, bentuk, ukuran koloni), pengamatan mikroskopis (pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora) dan uji biokimia (uji katalase dan uji tipe fermentasi), sedangkan kuantitatifnya antara lain uji aktivitas antibakteri oleh isolat BAL yang diperoleh dengan mengukur zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

Diagram alir identifikasi bakteri asam laktat

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat Pada Nanas (*Ananas comosus*)

Teknik isolasi mikroba merupakan upaya untuk menumbuhkan mikroorganisme di luar lingkungan alaminya. Pemisahan mikroorganisme di luar lingkungan bertujuan untuk mendapatkan kultur bakteri yang tidak lagi bercampur dengan bakteri lain yang disebut kultur murni. Prinsip isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya pada media padat, sehingga mikroba akan membentuk koloni dan tetap pada tempatnya (Jufri, 2020).

4.1.1 Pengamatan Makroskopis

Tabel 4.1 Karakterisasi Morfologi koloni Bakteri Asam Laktat pada Nanas (*Ananas comosus*)

No.	Kode	Morfologi Koloni				
	Isolat	Bentuk	Elevasi	Tepian	Warna	Ukuran
1.	NN 1	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,02mm
2.	NN 2	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,35mm
3.	NN 3	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,05mm
4.	NN 4	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,56mm
5.	NN 5	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,59mm
6.	NN 6	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,20mm
7.	NN 7	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,60mm
8.	NN 8	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,63mm
9.	NN 9	Bulat	Cembung	Licin	Putih Susu	2,53mm

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di dapatkan 9 isolat yang didisolasi dari buah nanas. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri asam laktat yang diambil dari buah nanas (*Ananas comosus*) secara makroskopis pada tabel 4.1 diatas seluruhnya memiliki bentuk, permukaan, tepi, warna dan elevasi yang seragam atau sama. Nurwantoro dan Mulyani (2012) mengatakan bahwa sel-sel bakteri asam laktat mampu tumbuh dan membelah diri secara aksponensial sampai jumlah maksimum yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan nutrisi di dalam media. Pertumbuhan mikroba dalam bahan pangan erat kaitannya dengan media tumbuh yang tersedia untuk pertumbuhan mikroba di dalamnya.

Kesembilan isolat yang didapatkan memiliki bentuk koloni bulat, permukaan cembung, tepi utuh, warna putih susu dan elevasi cembung. Ciri – ciri morfologi bakteri asam laktat yang didapatkan sesuai dengan pernyataan dari Hartini (2019), bahwa pengamatan makroskopik (bentuk, ukuran dan warna) menunjukkan BAL memiliki bentuk bulat, koloni putih krem dan elevasi cembung dengan tepi licin pada MRS agar yang membuktikan bahwa pada buah nanas terdapat bakteri asam laktat. Pernyataan ini juga diperkuat oleh Samboja, dkk (2019), menyatakan bahwa Bakteri asam laktat (BAL) dapat ditemukan pada makanan fermentasi. Dahlan, dkk (2017) pada penelitiannya menjelaskan bahwa Isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.3A) yang diremajakan dalam penelitian memiliki karakterisasi diantaranya bentuk koloni bulat, warna putih susu, permukaan licin dan ketika umur isolat tersebut sudah tua warnanya akan agak kekuning-kuningan berserabut.

Perbedaan morfologi tiap koloni menjadikannya sebagai ciri khas untuk dapat membedakan mikroorganisme pada tingkat takson, diantaranya perbedaan

strain dari suatu spesies. Menurut Sousa dkk, (2013). Pengamatan terkait karakteristik dilakukan untuk mengidentifikasi spesies bakteri karena memiliki pola pertumbuhan yang berbeda dan spesifik. Perbedaan morfologi koloni digunakan sebagai indikator proses identifikasi karena morfologi koloni dianggap sebagai bentuk ekspresi adaptasi bakteri terhadap lingkungannya.

Allah SWT telah berfirman dalam al-Qur'an surat adz-Dzariyaat (51) : 20 :

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ

Artinya : *“Dan di bumi terdapat tanda – tanda (kekuasaan Allah) bagi orang – orang yang yakin”*(Q.S. Adz-Dzariyaat 51: 20).

Ayat di atas menunjukkan bahwa dalam segala sesuatu yang telah diciptakan Allah SWT serta kejadian- kejadian yang terjadi di dalamnya, terdapat kekuasaan – kekuasaan Allah SWT yang lain,dapat dilihat dan diteliti bagi orang – orang yang yakin. Seperti adanya bakteri asam laktat yang diperoleh dari buah nanas yang telah didiamkan, dalam hal ini melalui proses fermentasi karena bakteri asam laktat dapat ditemukan dari buah yang telah difermentasi (Sari, 2013).

Bakteri asam laktat diisolasi yang bertujuan untuk menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik. Menurut tafsir Al- Muyassar menjelaskan yakni *“Dan di bumi serta apa yang diletakkan Allah padanya berupa gunung-gunung, samudera-samudera, sungai-sungai, pepohonan, tumbuh-tumbuhan, hewan-hewan, terdapat bukti-bukti tentang kekuasaan Allah bagi orang-orang yang meyakini bahwa Allah adalah Pencipta dan Pembentuk rupa”*. Isolat yang telah di amati secara makroskopis selanjutnya dilakukan uji pewarnaan gram, pewarnaan endospora, uji katalase dan uji tipe fermentasi (Manguntungi, dkk 2020).


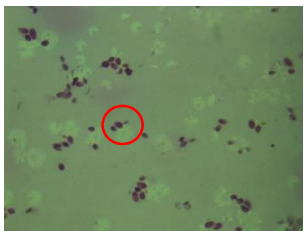

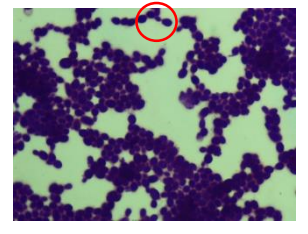
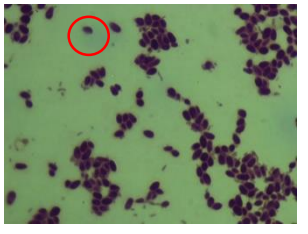
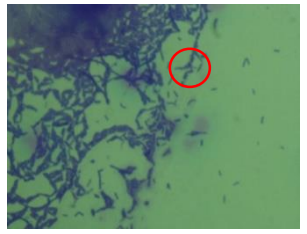
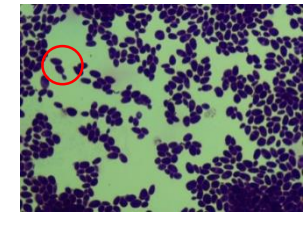
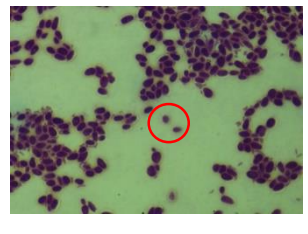
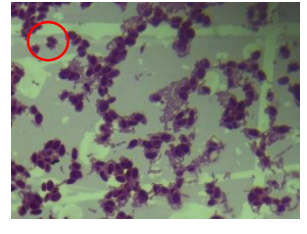
4.2 Pengamatan Mikroskopis

4.2.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan salah satu teknik pewarnaan yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri (mikroorganisme). Tujuan pewarnaan Gram adalah untuk mengidentifikasi mikroba. Bakteri yang diwarnai dengan metode Gram ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan bakteri sebagai Gram-positif atau Gram-negatif (Agustin, dkk 2018). Hal ini ditunjukkan dengan kemampuan bakteri dalam menyerap reagen warna. Bakteri yang diberi perlakuan dengan kristal violet tetap ungu meskipun dicuci dengan alkohol dan diberi safranin adalah bakteri Gram positif, sedangkan bakteri Gram negatif akan berubah menjadi merah setelah diberi safranin (Ramadhanti, *et al* 2021).

Lapisan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif hanya tersusun dari satu lapisan saja, yaitu lapisan peptidoglikan. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel. Lapisan luar terdiri dari lipopolisakarida dan protein dan lapisan dalam tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis. Pengidentifikasi masing masing bakteri mengacu pada buku pedoman *Bergey,s Manual of Determinative Bacteriology 9th*, diantaranya yaitu pengamatan bentuk sel, pewarnaan Gram, pewarnaan endospora dan uji katalase. Hasil pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat pada Nanas (*Ananas comosus*) tertera pada tabel 4.2 dibawah ini.

Tabel 4.2 Hasil pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat pada Nanas (*Ananas comosus*)

		
Pewarnaan Gram Isolat NN 1 (Gram positif, batang)	Pewarnaan Gram Isolat NN 2 (Gram positif, bulat)	Pewarnaan Gram Isolat NN 3 (Gram positif, batang)
		
Pewarnaan Gram Isolat NN 4 (Gram positif, bulat)	Pewarnaan Gram Isolat NN 5 (Gram positif, bulat)	Pewarnaan Gram Isolat NN 6 (Gram positif, batang)
		
Pewarnaan Gram Isolat NN 7 (Gram positif, bulat)	Perwanaaan Gram Isolat NN 8 (Gram positif, bulat)	Pewarnaan Gram Isolat NN 9 (Gram positif, bulat)

Hasil pengamatan karakterisasi mikroskopis secara pewarnaan Gram didapatkan bahwa kesembilan isolat memiliki warna Gram ungu, dengan bentuk sel yang berbeda isolat NN1, NN3 dan NN6 memiliki bentuk sel batang, sedangkan isolat NN2, NN4, NN5, NN7, NN8 dan NN9 berbentuk bulat. Diduga kesembilan isolat yang didapat tergolong bakteri asam laktat karena hasil pewarnanaan gram

adalah Gram positif. Menurut Nuryady *et al.* (2013), hasil kesembilan isolat merupakan gram positif dengan dinding sel berwarna ungu karena mempertahankan warna ungu dari Kristal violet. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya protein ribonukleat kompleks yang dapat mempertahankan warna dasar setelah dilakukan proses pelunturan. Selain itu, terdapat unsur ester fosforik pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari dua lapisan yaitu peptidoglikan yang tebal dan membran dalam. Lapisan peptidoglikan inilah yang dapat mengikat zat warna kristal violet.

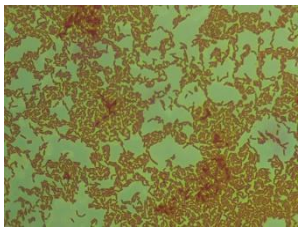
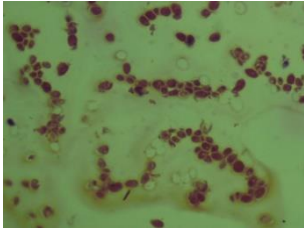

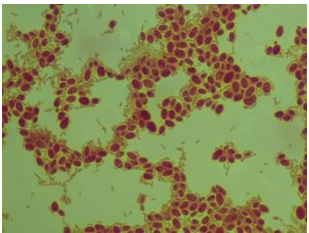
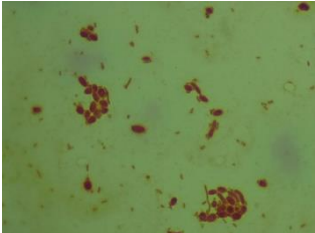

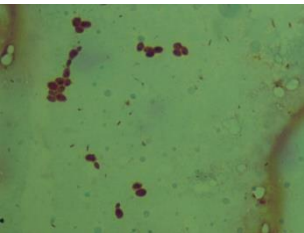
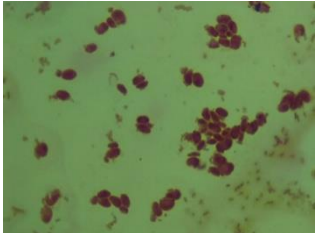
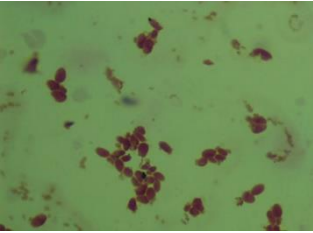
Bakteri asam laktat yang termasuk dalam bakteri gram positif dinding selnya hampir tersusun sepenuhnya oleh peptidoglikan. Peptidoglikan yang terbentuk atas ikatan tiga dimensi dari gula amino N-acetylglucoaminase dan N-acetyl murmaric acid akan mempertahankan Kristal violet karena memiliki kekuatan mekanik dinding sel yang lebih kuat. Kekuatan mekanik dinding sel bakteri gram positif terbentuk karena adanya hubungan silang peptida antara rantai peptidoglikan. Zat penghilang warna mendehidrase lapisan peptidoglikan yang tebal, dalam keadaan dehidrase dinding sel bertindak sebagai penghalang permeabilitas sehingga menahan pewarna di dalam sel. Sebaliknya, pelarut aseton-alkohol dengan mudah merusak membran luar bakteri gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan relatif tipis sehingga tidak dapat mempertahankan kompleks pewarna (Hamidah, dkk 2019).

4.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk membedakan endospora dengan sel vegetatif sehingga perbedaannya tampak jelas terlihat. Tahap pewarnaan endospora dilakukan pada 9 isolat. Pada pewarnaan endospora, spora yang dihasilkan oleh

bakteri akan menyerap malachite green, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah dikarenakan pewarnaan safranin (Lawalata dkk., 2020). Dari hasil pewarnaan endospora menunjukkan bahwa tidak ditemukan endospora pada sel isolat bakteri dari fermentasi buah nanas, yang terlihat dibawah mikroskop hanyalah sel vegetatif yang berwarna merah. Hasil pewarnaan endospora dapat dilihat pada tabel 4.3 sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil isolat BAL berdasarkan pengamatan pewarnaan endospora yang diperoleh dari buah nanas (*Ananas comosus*)


		
Pewarnaan Endospora Isolat NN 1 (non-spore)	Pewarnaan Endospora Isolat NN 2 (non-spore)	Pewarnaan Endospora NN 3 (non-spore)
		
Pewarnaan Endospora Isolat NN 4 (non-spore)	Pewarnaan Endospora Isolat NN 5 (non-spore)	Pewarnaan Endospora Isolat NN 6 (non-spore)
		
Pewarnaan Endospora Isolat NN 7 (non-spore)	Pewarnaan Endospora Isolat NN 8 (non-spore)	Pewarnaan Endospora Isolat NN 9 (non-spore)

Berdasarkan hasil pewarnaan endospora, pada semua isolat yang diamati, memiliki karakteristik nonspora atau tidak menghasilkan spora. Menurut Laily dkk (2013), bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak membentuk spora, sehingga ketika dilakukan pewarnaan endospora, yang tampak adalah sel vegetatif yang menghasilkan warna merah muda pada akhir tahap pewarnaan. Pada pewarnaan endospora, endospora akan terlihat pada mikroskop dengan bentuk bulatan-bulatan berwarna hijau.







4.4 Uji Katalase

Pengujian parameter biokimiawi dilakukan untuk konfirmasi koloni BAL salah satunya yaitu pengujian katalase. Katalase merupakan enzim yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Uji katalase bertujuan untuk memastikan apakah isolat BAL yang dihasilkan mengandung enzim katalase atau tidak. BAL pada umumnya tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga termasuk sebagai bakteri dengan katalase negatif. Menurut Suhaeni dan Akhmad (2016), bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida. Hasil pengamatan uji katalase ditunjukkan pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

		
Uji Katalase Isolat BAL NN 1 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 2 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 3 (katalase negatif)

Tabel 4.4 Lanjutan







		
Uji Katalase Isolat BAL NN 4 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 5 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 6 (katalase negatif)
		
Uji Katalase Isolat BAL NN 7 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 8 (katalase negatif)	Uji Katalase Isolat BAL NN 9 (katalase negatif)

Hasil dari uji katalase terhadap isolat BAL pada Nanas menunjukkan bahwa 9 isolat BAL tersebut telah memenuhi ciri-ciri BAL yaitu katalase negatif karena tidak dapat menguraikan H_2O_2 sehingga tidak menghasilkan gelembung gas. Katalase dalam sel organisme berperan untuk mencegah akumulasi H_2O_2 sebagai produk dari proses metabolisme hingga ke tingkat toksik. H_2O_2 jika dapat diuraikan dengan enzim katalase maka akan menghasilkan oksigen yang bersifat toksik. Menurut Hamidah dkk (2019), bakteri asam laktat merupakan bakteri yang negatif menghasilkan enzim katalase. Bakteri asam laktat merupakan bakteri anaerob fakultatif yang menghasilkan enzim peroksidase dimana akan memecah H_2O_2 menjadi senyawa organik dan H_2O sehingga tidak menghasilkan gelembung udara.




4.5 Uji Tipe Fermentasi

Berdasarkan hasil uji tipe fermentasi pada kesembilan isolat menunjukkan bahwa semua isolat merupakan BAL homofermentatif. BAL yang menghasilkan asam laktat, karbondioksida (CO₂) dan etanol termasuk dalam kelompok heterofermentatif sedangkan BAL yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dari fermentasi glukosa disebut homofermentatif hasil pengamatan uji tipe fermentasi ditunjukkan pada tabel 4.5:

Tabel 4. 5 Hasil pengamatan uji tipe fermentasi isolat BAL

		
Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 1 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 2 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 3 (homofermentatif)
		
Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 4 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 5 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 6 (homofermentatif)

Tabel 4.5 Lanjutan

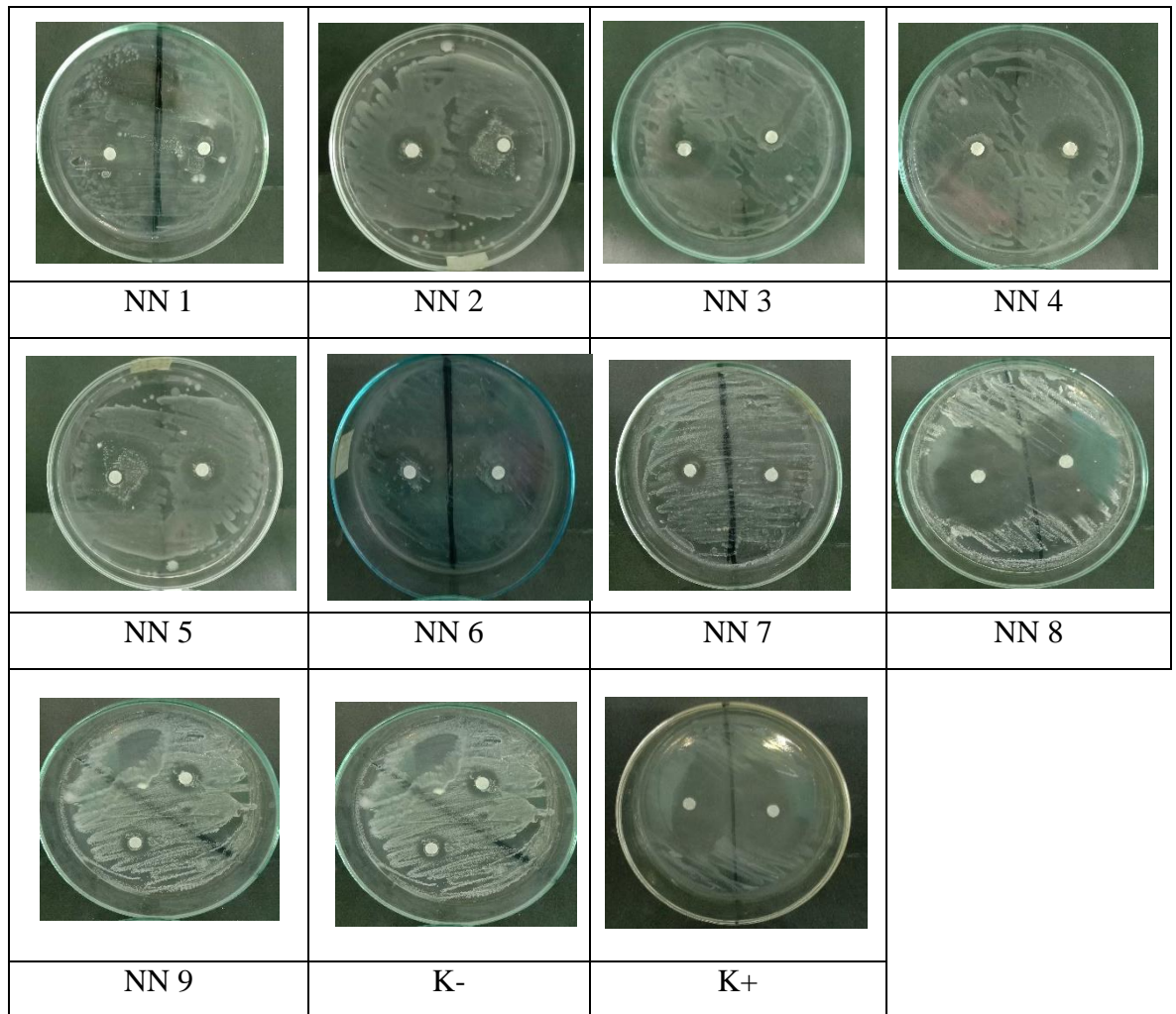
		
Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 7 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 8 (homofermentatif)	Uji Tipe Fermentasi Isolat NN 9 (homofermentatif)

Uji tipe fermentasi bertujuan untuk menggolongkan BAL termasuk ke dalam kelompok homofermentatif atau kelompok heterofermentatif dengan pengamatan melihat terbentuk atau tidaknya gelembung udara pada tabung durham. Uji tipe fermentasi yang dilakukan pada kesembilan isolat bakteri asam laktat dengan melihat ada atau tidaknya gelembung pada tabung durham, menunjukkan bahwa semua isolat tersebut dapat digolongkan pada kelompok homofermentatif, karena tidak terlihatnya gelembung pada tabung durham saat dilakukan pengamatan (Berliyanti dkk., 2020). Syukur et al (2014) dalam penelitiannya mengenai aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari dadih asal Solok, Sumatera Barat, melaporkan bahwa BAL yang diisolasi dari dadih memiliki karakter Gram positif, katalase negatif, jenis fermentasi homofermentatif. Perbedaan antara BAL homofermentatif dan heterofermentatif dapat dilihat terhadap produk fermentasi yang dihasilkan dan ada atau tidaknya enzim aldolase yang merupakan enzim utama dalam glikolisis. Bakteri heterofermentatif tidak memiliki enzim aldolase sehingga tidak bisa memecah fruktosa bifosfat menjadi bifosfat triosa (Aloysius, dkk 2019).

Karakteristik tingkat genus dapat diketahui dengan melihat bentuk sel serta susunan dari isolat bakteri yang ditemukan. Untuk menentukan genus dari masing-masing isolat Bakteri yang diperoleh pada penelitian kali ini digunakan data hasil karakteristik yang telah dilakukan yaitu data karakteristik mikroskopik, makroskopik dan biokimia. Dalam penelitian ini didapatkan kesembilan isolat yang telah dilakukan tahap pengujian dengan memiliki bentuk sel batang dan bulat dengan susunan berantai, merupakan jenis Gram positif, katalase negatif dan tidak memiliki spora. Sehingga diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus* (NN1, NN3 dan NN6) dan *Leuconostoc* (NN2, NN4, NN5, NN7, NN8 dan NN9). Holt *et al.* (1994), dalam *Bergey,s Manual of Determinative Bacteriology* mengatakan bahwa bakteri diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* termasuk bakteri Gram positif, tidak memiliki spora, non-motil dan anaerob pada isolasi. Ngatirah (2000) mengatakan bahwa beberapa strain bakteri asam laktat berpotensi sebagai probiotik karena kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen.

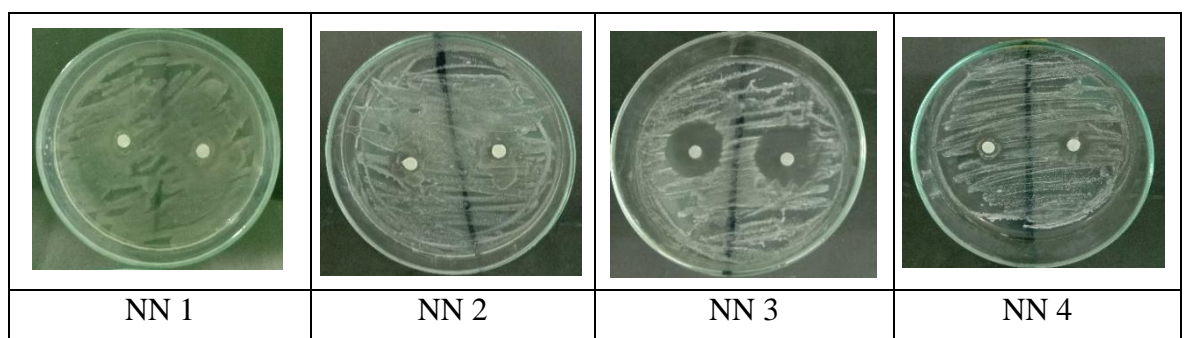
4.6 Aktivitas Antibakteri BAL dari Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

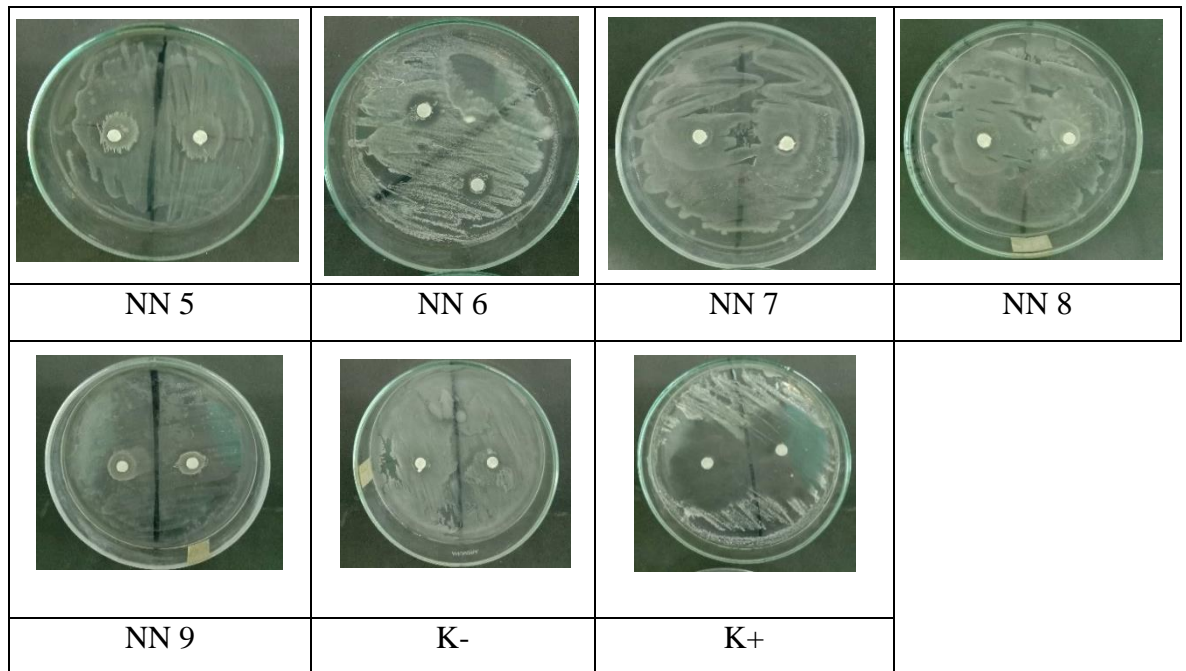
Berdasarkan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia terhadap kesembilan isolat termasuk Gram positif yang memiliki bentuk bulat maupun batang, endospora negatif, katalase negatif dan tipe fermentasi homofermentatif, uji selanjutnya adalah pengujian daya hambat bakteri asam laktat dari buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pengujian ini menggunakan metode cakram. Hasil pengujian menunjukkan adanya zona penghambatan berupa zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang mengandung isolat BAL pada kultur bakteri *S. aureus* (Gambar 4.1)



Gambar 4.1 Zona hambat pada Uji Antibakteri Bakteri *S. aureus* Isolat BAL dari Buah Nanas (*Ananas comosus*). a) isolat NN 1, b) isolat NN 2, c) isolat NN 3, d) isolat NN 4, e) isolat NN 5, f) isolat NN 6, g) isolat NN 7, h) isolat NN 8, i) isolat NN 9, j) Kontrol negatif, k) Kontrol positif.

Hasil pengujian menunjukkan adanya zona penghambatan berupa zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang mengandung isolat BAL pada kultur bakteri. *E. coli*. (Gambar 4.2)





Gambar 4.2 Zona hambat pada Uji Antibakteri Bakteri *E. coli* Isolat BAL dari Buah Nanas (*Ananas comosus*). a) isolat NN 1, b) isolat NN 2, c) isolat NN 3, d) isolat NN 4, e) isolat NN 5, f) isolat NN 6, g) isolat NN 7, h) isolat NN 8, i) isolat NN 9, j) Kontrol negatif, k) Kontrol positif.

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dari buah nanas memiliki aktivitas penghambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, hal ini dapat terlihat dari zona bening yang muncul disekitar kertas cakram. Potensi bakteri asam laktat sebagai antimikroba telah banyak diuji oleh beberapa peneliti. Isolat bakteri asam laktat asal dua hari fermentasi kakao varietas forester memiliki sifat antibakteri terhadap lima bakteri patogen (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*) dengan menghasilkan diameter daya hambat berkisar 7-12 mm (Rasyid, dkk 2021). Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil pengukuran zona hambat Isolat BAL dari Buah Nanas (Ananas comosus) pada Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

a. Hasil pengukuran zona hambat pada Bakteri *S. aureus*

Kode Isolat	Rata-Rata	Kategori Zona Hambat
Kontrol Negatif	0	Tidak ada
NN1	8,18	Sedang
NN2	12,77	Kuat
NN3	11,055	Kuat
NN4	10,49	Kuat
NN5	13,5	Kuat
NN6	11,28	Kuat
NN7	10,995	Kuat
NN8	15,87	Kuat
NN9	12,625	Kuat
Kontrol Positif	23,17	Sangat kuat

Keterangan: K- : Aquades steril, K+ : Ciproflax

b. Hasil pengukuran zona hambat pada Bakteri *E. coli*

Kode Isolat	Rata-Rata	Kategori Zona Hambat
Kontrol Negatif	0	Tidak ada
NN1	8,51	Sedang
NN2	10,17	Kuat
NN3	14,265	Kuat
NN4	10,18	Kuat
NN5	12,095	Kuat
NN6	10,405	Kuat
NN7	10,265	Kuat
NN8	10,99	Kuat
NN9	11,635	Kuat
Kontrol Positif	21,43	Sangat kuat

Keterangan: K- : Aquades steril, K+ : Ciproflaxin

Berasarkan data rata-rata hasil dari uji daya hambat pada tabel 4.3 dapat diketahui bahwa hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan kesembilan isolat BAL dari buah nanas mampu menghambat kedua mikroba uji *E. coli* dan *S. aureus*. Adanya zona hambat (zona bening) di sekitar kertas cakram menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroba uji. Zona hambat yang berada disekitar kertas

cakram diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Parameter yang digunakan adalah zona hambat, zona hambat adalah area bening yang berada disekitar sumuran sebagai indikasi tidak adanya atau terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme. Penggunaan BAL ini dikarenakan bakteri asam laktat disebut sebagai *food grade microorganisms* yang merupakan mikroba yang tidak beresiko terhadap kesehatan karena tidak menghasilkan racun berbahaya pada bahan pangan melainkan mempunyai fungsi sebaliknya yang baik bagi kesehatan. Hal ini karena bakteri asam laktat dapat menghambat secara alami mikroba patogen (Delvia, dkk 2015). Penelitian terdahulu dari Sarwendah, dkk (2020) menunjukkan bahwa daging buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr Var. Queen) memiliki efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan metode difusi cakram setelah diinkubasi selama 48 jam, Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Kemudian diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter zona hambat sebagai besarnya daya hambat antibakteri.

Hasil pengukuran uji daya hambat isolat BAL dari buah nanas. Isolat NN 8 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan rata-rata 15,87 (kuat) sedangkan untuk bakteri *E. coli* isolat NN 3 dapat menghambat dengan rata-rata 14,265 (kuat). Kedua isolat tersebut merupakan isolat yang memiliki zona hambat dengan diameter ukuran terbesar pada masing masing bakteri uji. Sedangkan untuk diameter ukuran terkecil pada bakteri uji *S. aureus* adalah isolat NN 1 dengan rata-rata 8,18 (sedang) dan untuk bakteri uji *E. coli* rata-rata diameter terkecil pada isolat NN 1 8,51 (sedang). Nilai diameter zona hambat kontrol positif ciproflaxin pada tiap mikroba uji, terhadap bakteri *S. aureus* dengan rata-rata diameter 23,17 (sangat

kuat), sedangkan terhadap bakteri uji *E. coli* dengan rata-rata diameter 21,43 (sangat kuat). Dari hasil ini, ciproflaxin lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri. Hal ini, dikarenakan memang obat tersebut merupakan obat sintesis yang secara luas digunakan sebagai infeksi baik bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Adapun kategori rerata diameter penghambatan antibakteri dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Kategori Rerata Diameter Panghambatan Zat Antibakteri

Zona hambat	Kategori
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-19 mm	Kuat
20 mm	Sangat kuat

Sumber: (Pangestu et al., 2017)

Adanya perbedaan besar kecil diameter zona hambat bisa dipengaruhi oleh senyawa antimikroba dari cairan kultur isolat BAL ke media yang diberi bakteri patogen (Elfina *et. al.*, 2014). Mekanisme kerja zat antibakteri terhadap bakteri target terjadi dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, merusak molekul protein, menghambat aktivitas enzim dan menghambat sintesis asam nukleat. Menurut Lunggani (2007), asam yang terlalu tinggi akan mengakibatkan lipopolisakarida lisis dan memacu terjadinya lubang pada dinding selnya. Antimikroba dapat masuk ke dalam sel dan kontak dengan membran sitoplasma sehingga mempengaruhi sintesis energi dan permeabilitas dinding sel yang akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri. Keberadaan BAL dalam bahan pangan hasil fermentasi menghasilkan berbagai jenis senyawa metabolit yang dapat

berperan sebagai antimikroba, sehingga dapat menghambat atau mengontrol pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan kehadirannya, seperti mikroba patogen dan perusak bahan pangan. BAL menghasilkan komponen antimikroba seperti asam organik (asam laktat, asam asetat, asam propionat), hidrogen peroksida dan bakteriosin (Kiti, dkk 2019).

Menurut Alakoni *et, al.* (2006), asam laktat yang diproduksi dari kultur starter BAL dapat berfungsi sebagai antimikroba alami. Mekanisme masuknya antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif berbeda, menurut Nychas (2000), menyatakan bahwa pada bakteri Gram positif, antibakteri langsung masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein, selanjutnya dapat menyebabkan lisis. Sedangkan pada bakteri Gram negatif antibakteri masuk melalui porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein.

Senyawa aktif antimikroba aktif dalam *Ananas comosus* L. Merr termasuk saponin dan bromelain. Baik saponin dan bromelain bekerja sebagai antimikroba melalui sifat membranolitik. Terutama bromelain bekerja sebagai enzim proteolitik sekali itu terikat pada membran sel bakteri menyebabkan kerusakan dan menginduksi kematian sel bakteri. Aktivitas antimikroba dari senyawa aktif dalam *Ananas comosus* L. Merr telah dilaporkan sangat kuat terhadap kedua Gram-negatif dan bakteri Gram-positif, termasuk *Pseudomonas aeruginosa* (Zharfan, *et.al* 2017).

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

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَةً وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرُزُقِينَ

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

Lafadz ma'āyisya artinya keperluan-keperluan. Keperluan yang dimaksud adalah kekayaan alam yang ada di bumi merupakan kekuasaan Allah SWT menciptakannya digunakan untuk kemaslahatan hidup manusia. Karena sesungguhnya yang berada di alam baik yang hidup maupun mati, kecil maupun besar memiliki manfaat masing-masing dan telah dijelaskan bahwa di bumi ini Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang tidak terukur unsur-unsur yang tidak mengandung faedah. Menurut tafsir Kemenag (2021), Dan selain itu, Kami (Allah) pun telah menjadikan padanya sumber-sumber dan sarana-sarana kehidupan untuk keperluanmu, wahai manusia, baik berupa sandang, pangan, maupun papan. Dan Kami (Allah) ciptakan pula beragam makhluk-makhluk yang bukan kamu pemberi rezekinya, melainkan kami-lah yang menanggungnya. Dan tidak ada sesuatu pun dari makhluk ciptaan Allah di langit dan bumi melainkan pada sisi kamilah khazanahnya. Kami (Allah) yang menguasai, mengatur, dan membagi rezekinya sesuai kehendak dan ketentuan Kami (Allah). Kami (Allah) tidak menurunkannya kepada mereka melainkan dengan ukuran tertentu, yakni sesuai kondisi, kebutuhan, dan keadaan mereka masing-masing. Allah SWT menjadikan nikmat serta tanda kekuasaan-Nya bagi kaum yang mempunyai keinginan dan memikirkan apa yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan.pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT.

Daya antibakteri yang dihasilkan dari isolasi buah nanas lebih efektif terhadap bakteri Gram positif yaitu bakteri *S. aureus* daripada bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*. Perbedaan hasil nilai rata-rata diameter zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ini dapat disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri yang dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Hal ini dapat dilihat adanya zona hambat yang terbentuk akibat aktivitas antimikroba. Terbentuknya zona hambat pada masing-masing jenis isolat BAL diduga disebabkan adanya senyawa aktif dari metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Menurut Noordiana, dkk (2013) Kontaminasi bakteri patogen dapat dihambat menggunakan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Kelompok bakteri ini mampu menghasilkan bakteriosin, asam organik, hidrogen peroksida, dan beberapa senyawa lain yang dapat berperan sebagai agen biopreservasi. Bettache *et al.* (2012) menyatakan bahwa hasil isolasi BAL dari *dhan*, mentega susu fermentasi tradisional yang berasal dari Negara Algeria Barat ditemukan genus *Leuconostoc* sebanyak 8 isolat, *Lactococcus* 13 isolat dan 35 isolat *Lactobacillus*. Ketiga genus tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Listeria innocua*.

BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Berdasarkan karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia, terdapat 9 isolat BAL dalam buah nanas (*Ananas comosus*). Uji pewarnaan Gram yang dilakukan menunjukkan jenis isolat termasuk Gram positif, endospora negatif serta katalase negatif dan didapatkan 3 isolat bakteri asam laktat dari genus *Lactoacillus* yaitu isolat NN1, NN3 dan NN6 yang telah dikarakterisasi dan isolat NN2, NN4, NN5, NN7, NN8 dan NN9 dari genus *Leuconostoc*.
2. Hasil fermentasi bakteri asam laktat dari buah nanas (*Ananas comosus*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat hasil isolat BAL dari buah nanas.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Penelitian ini perlu dikembangkan lagi dengan mengidentifikasi isolat BAL yang diperoleh sampai ke tingkat spesies.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metabolit sekunder yang dimiliki isolat BAL dari fermentasi buah nanas (*Ananas comosus*).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustine, L., Okfrianti, Y., & Jum, J. 2018. Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79-83.
- Ahmetagic, A., Fatima, N., Sead, A., Rakovac-Tupkovic, L., & Porobic-Jahic, H. 2013. Etiology of peritonitis. *Journal Medical Archives*, 64(4), 278–281.
- Akrinisa, J. A. M., MP, S., & Arpah, M. 2019. Keragaman Morfologi Tanaman Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) Di Kabupaten Indragiri Hilir. *Jurnal Agro Indragiri*, 4(1), 34-38.
- Alakomi, H. L., Paananen, A., Suihko, M. L., Helander, I. M., & Saarela, M. 2006. Weakening effect of cell permeabilizers on gram-negative bacteria causing biodeterioration. *Applied and environmental microbiology*, 72(7), 4695-4703.
- Ali, M. M., Hashim, N., Abd Aziz, S., & Lasekan, O. 2020. Pineapple (*Ananas comosus*): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products. *Food Research International*, 137, 109675.
- al-Jaziri, Abdurrahman, Fiqh ala Madzahib al-Arba'ah, Juz III, Beirut: Dar alQalam, t.th.,.
- Aloysius, A., Ulfa, A., Situmorang, A. K. F., Harmileni, H., & Fachrial, E. 2019. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Makanan Tradisional Fermentasi Khas Batak "Naniura". *Biolink (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 6(1), 8-15.
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253-257.
- Amin, L. Z. (2014). Pemilihan antibiotik yang rasional. *Medical Review*. 27(3): 40–5. 27(3), 40–45.
- Antara, N.S., Ida, B.W.G., Pande, K.D.K., I Made, S.U. 2019. The Role of Lactic Acid Bacteria on Safety and Quality of Fermented Foods. *AIP Conference Proceedings*.
- Aritonang, S.N, Elly Roza., Evi Rossi., Endang Purwanti dan Husmaini. 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Okara and Evaluation of Their Potential as Candidate Probiotics. *Pakistan Journal of Nutrition*. 16 (8): 618-628.

- Astoko, E. P. (2020). Konsep Pengembangan Agribisnis Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr.) Di Kabupaten Kediri Provinsi Jawa Timur. *HABITAT*, 30(3), 111-122.
- Bakri, Z., Hatta, M., & Massi, M. N. 2015. Deteksi keberadaan bakteri *Escherichia coli* O157: H7 pada feses penderita diare dengan metode kultur dan PCR. *JST kesehatan*, 5(2), 184-192.
- Bansode DS, Chavan MD. Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of papaya and pineapple fruit juices against selected enteric pathogens. *Int J Pharm Bio Sci.* 2013;4(2):1179-81.
- Berliyanti, A. R., Suprihadi, A., & Kusdiyantini, E. 2020. Deteksi Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) pada bakteri asam laktat hasil isolasi produk fermentasi petis ikan dari Rembang. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 3(2), 59-67.
- Bettache, G., A. Fatma, H. Miloud dan K. Mebrouk. 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World App. Scie. J.* 17 (4): 480-488.
- Bulu, S., Ledo, M. E., & Rupidara, A. D. N. (2019). Identifikasi Morfologi Bakteri Asam Laktat Pada Nira Segar Lontar (*Borassus flabellifer* Linn). *Jambura Edu Biosfer Journal*, 1(2), 47-52.
- CABI, 2019. *Ananas comosus*. Invasive Species Compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/5392>. (diakses tanggal 20 November 2019).
- CABI, 2019. *Escherichia coli*. Invasive Species Compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/83003>. (diakses tanggal 20 November 2019).
- CABI, 2019. *Staphylococcus aureus*. Invasive Species Compendium. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/63045>. (diakses tanggal 20 November 2019).
- Campbell, N. A. & J. B. Reece. 2008. Biologi, Edisi Kedelapan Jilid 3. Terjemahan: Damaring Tyas Wulandari. Jakarta: Erlangga.
- Chen CC, Lai CC, Huang HL, Huang WY, Toh HS, Weng TC, Chuang YC, Lu YC, Tang HJ. 2019. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Front Microbiol* 10 (APR): 1-10.
- Dahlan, A., & Wahyuni, S. Ansharullah. 2017. Morfologi dan Karakterisasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (UM 1.3 A) dari Proses Fermentasi

Wikau Maombo untuk Studi Awal Produksi Enzim Amilase. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 2(4), 657-663.

- Damayanti, S. S., Komala, O., & Effendi, E. M. 2020. Identifikasi bakteri dari pupuk organik cair isi rumen sapi. *EKOLOGIA*, 18(2), 63-71.
- De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., & González-Aguilar, G. A. 2016. Pineapple composition and nutrition. *Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition*; Lobo, MG, Paull, RE, Eds, 221-239.
- Delvia, F., Fridayanti, A., & Ibrahim, A. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 1, pp. 114-120).
- Desmarchelier, P., & Fegan, N. 2016. Pathogens in milk: *Escherichia coli*. Elsevier
- Elfina, D., Martina, A., Roza, R.M. 2014. Isolasi dan karakterisasi fungi endofit dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) sebagai antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Online Mahasiswa Bidang MIPA*, 1:1-10.
- Embisa, Y. A., Tendean, L., & Zuliari, K. (2016). Pengaruh konsumsi nanas (*Ananas comosus* L. Merr) terhadap penurunan indeks plak pada anak usia 10-12 tahun di SD Inpres 4/82 Pandu. *e-GiGi*, 4(2).
- Engelkirk, P. G., 2011, *Burton's Microbiology for the Health Sciences, Ninth Edition*, pp. 136-7, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2012) Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10 (6), 1–10.
- FAO. 2018. Transforming Food and Agriculture to Achieve the SDGs. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO. 2020. Major Tropical Fruits - Preliminary Market Results 2019. Food and Agriculture Organization, Rome.
- Frey, Y., Rodriguez, J. P., Tomann, A., Schwendener, S., & Perreten, V. (2013). Genetic characterization of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis milk. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2247–2257. JDS.2012-6091
- Gunawan, H. C., Yusliana, Y., Daeli, P. J., Sarwendah, S., & Chiuman, L. 2019. Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L)

- Merr) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 15(2), 170-177.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* Dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Handayani, Rini., Sulistiani., dan Ninu Setianingrum. 2016. Identifikasi Produksi GABA dari Kultur Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan Metode TLC. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. Vol.2 No.2: 208-213.
- Hannif, Sri Mulyani dan Kuschitawaty. 2011. Faktor Risiko Diare Akut Pada Balita. *Jurnal Berita Kedokteran Masyarakat*, Vol 27, hal 10-17.
- Hartini P, Purwanto H, Juliyarsi IY, Purwati E. 2019. Probiotic Potential Of Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus Fermentum* Isolation From Tempoyak In Padang Pariaman District, West Sumatera Indonesia To Acid Condition, Bile Salt And Antimicrobial Activity. *Int Res J Pharm* 10: 70-73
- Hidayat, H. 2015. Identifikasi Morfologi dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dari Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora sp.*). *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 15(1-2), 75-84.
- HiMedia Laboratories, 2020. *Technical data de Mann Ragosa Sharpe Broth*.
- HiMedia Laboratories, 2020. *Technical data de Mann Ragosa Sharpe Agar*.
- Holt, J.G., Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. 1991. *Bergey's manual of determinative bacteriology 9th*. Baltimore : Lippincott William and Wilkins USA
- Hossain, M. F. 2016. World pineapple production: an overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4), 11443-11456.
- Hudson, J. A. 2014. *Microbiological Safety Of Meat. Staphylococcus aureus. Elsevier*.
- Hutahaean AJ, Silalahi J, Suryanto D, Satria D. 2019. Characterisation of lactic acid bacteria from Dengke Naniura of common carp (*Cyprinus carpio*) with α -glucosidase inhibitory activity. *Open Access Macedonian J Med Sci* 7 (22): 3794-3798.
- Islam, R., Hossain, M. N., Alam, M. K., Uddin, M. E., Rony, M. H., Imran, M. A. S., & Alam, M. F. 2020. Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(2), 49-59.

- Ismail Y. S., Yulvizar, C dan Mazhitov, B. 2018. Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 130:1–8.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Istini. 2020. Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal Of Laboratory*. Vol 2 (3), 41-46
- Jang, H.-G. Hur, M.J. Sadowsky,, M.N. Byappanahalli, T. Yan and S. Ishii (2017).” Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review”. *Journal of Applied Microbiology* 123, 570—581.
- Jufri, R. F. 2020. Microbial isolation. *Journal La Lifesci*, 1(1), 18-23.
- Kartika, P. N., & Nisa, F. C. 2014. Studi Pembuatan Osmodehidrat Buah Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr): Kajian Konsentrasi Gula Dalam Larutan Osmosis Dan Lama Perendaman [In Press September 2015]. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4).
- Kasi, P. D., Ariandi, A., & Mutmainnah, H. 2017. Uji antibakteri isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 5(3), 97-101.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. Buku Pedoman Pengendalian Penyakit Diare. Direktorat Jenderal Pengendalian dan Penyehatan Lingkungan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Kiti, A. A., Jamilah, I., & Rusmarilin, H. 2019. Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Pangan Pliek U terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan Khamir *Candida albicans* secara in Vitro. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 4(1), 118-126.
- Kumalasari, K.E.D, Nurwantoro, dan S. Mulyani., 2012, Pengaruh Kombinasi Susu dengan Air Kelapa Terhadap Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Gula dan Keasaman Drink Yoghurt, *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1 (2): 48-53.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. 2020. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Makanan Tradisional Suku Rejang Di Provinsi Bengkulu:“LEMEA”. *Alotrop*, 4(1).
- Kusuma, A. P., Chuzaemi, S., & Mashudi, M. 2019. Pengaruh lama waktu fermentasi limbah buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) terhadap kualitas

- fisik dan kandungan nutrien menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*, 2(1), 1-9.
- Laily IN, Utami R dan Widowati E, 2013. Isolasi dan karakteristik Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2(4): 179-184.
- Laily, I. N., Utami, R., & Widowati, E. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil Riboflavin dari produk fermentasi sawi asin. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 2(4).
- Lasekan, O., & Hussein, F. K. 2018. Classification of different pineapple varieties grown in Malaysia based on volatile fingerprinting and sensory analysis. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1-12.
- Lawalata, H. J., Rompas, C. F., & Kansile, E. F. 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Anggur Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Sebagai Penghasil Eksopolisakarida. *JSME (Jurnal Sains, Matematika & Edukasi)*, 8(1), 5-10.
- Lunggani, A. T. 2007. Kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan dan produksi Aflatoksin B2 *Aspergillus flavus*. *Bioma*, 9(2), 45-51.
- Malelak, M. C. C., Wuri, D. A., & Tangkonda, E. 2015. Tingkat Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin di Pasar Tradisional Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(2), 147-163.
- Malo, P. M., & Urquhart, E. A. 2016. Fermented Foods: Use of Starter Cultures. *Encyclopedia of Food and Health*, 681–685.
- Manaroinsong, A. 2015. Uji daya hambat ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Pharmacon*, 4(4).
- Manguntungi, B., Sari, A. P., Chaidir, R. R. A., Islam, I., Vanggy, L. R., Sufiyanti, N., ... & Kusuma, W. D. 2020. Isolasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Antibakteri BAL Indigenous dari Sarang Lebah *Trigona* spp. Asal Kabupaten Sumbawa. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(1), 13-18.
- Manik M, Kaban J, Silalahi J, Ginting M. 2021. Lactic acid bacteria (LAB) with probiotic potential from Dengke Naniura. *Baghdad Sci J* 18 (1): 35-40. DOI: 10.211123/bsj.2021.18.1.0035.
- Maryanty, Y., Fandi, L.W.S., Robby, P. 2019. Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*. *J. Tek. Kim. Ling.* Vol. 4, No. 2.

- Maurice Bilung, L., Tahar, A. S., Kira, R., Mohd Rozali, A. A., & Apun, K. 2018. High occurrence of *staphylococcus aureus* isolated from fitness equipment from selected *gymnasiums*. *Journal of environmental and public health*, 2018.
- Miranda A. J. Makalew, dkk. Uji Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. Manado. Universitas Sam Ratulangi. 2016.
- Moh, L. G, Pamo, T. E and Kuate Jules-Roger. 2021. Seasonal Diversity of Lactic Acid Bacteria in Artisanal Yoghurt and Their Antibiotic Susceptibility Pattern. *Hindawi International Journal of Food Science*. Volume, Article ID 6674644.
- Monem MA., Mohamed EA., Awad ET., Ramadan AHM., and Mahmoud HA. 2014. Multiplex PCR as emerging technique for diagnosis of enterotoxigenic *E. coli* isolates from pediatric watery diarrhea. *Journal of American Science*, Vol 10 No (10).
- Muñoz, R., Moreno-Arribas, M. V., & Rivas, B. de las. 2011. Lactic Acid Bacteria. *Molecular Wine Microbiology*, 191–226.
- Nasri, N., Harahap, U., Silalahi, J., & Satria, D. 2021. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from Dengke Naniura of Carp (*Cyprinus carpio*) against diarrhea-causing pathogenic bacteria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(8).
- Ngatirah, 2000. Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Agen Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Yogyakarta.
- Ningsih, N.P., Rafika, S., Pratiwi, A. 2018. Optimasi Aktivitas Bakteriosin Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus Brevis* Dari Es Pisang Ijo. Vol.7, No. 2.
- Noordiana, N., Fatimah, A. dan Mun, A. 2013. Antibacterial agents produced by lactic acid bacteria isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp. *International Food Research Journal* 20 (1):117-124.
- Nugraheni. 2016. Sehat Tanpa Obat dengan Nanas. Yogyakarta. ISBN: 9789792960358 pp: 2-4.
- Nurhidayati, S. Faturrahman, Ghazali, M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, Vol. 1 No. 2.
- Nurhikmayani, R., Budi, S.D., Endah, R. 2019. Isolation and molecular identification of antimicrobial-producing Lactic Acid Bacteria from chao, South Sulawesi (Indonesia) fermented fish product.

- BIODIVERSITAS*. Volume 20, Number 4. Ogunmefun, O. T., Asoso, O. S., & Olatunji, B. P. 2018. Nutritional values, chemical compositions and antimicrobial activities of fruit juice from pineapple (*Ananas comosus* L.) and coconut (*Cocos nucifera* L.) blends. *Journal of Food Science and Nutrition*, 1(2).
- Nurin, L. A., Amalia, R., Arisna, T. S., Sulistyanto, W. N., & Trimulyono, G. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Berperan dalam Fermentasi Tumpi Jagung Bahan Pakan Ternak. *Sains & Matematika*, 6(1).
- Nuryadi MM, Istiqomah T, Faizah R, Uabidillah S, Mahmudi Z. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal youghurt. *Journal University of Jember*. 1(5): 1–11.
- Nychas, G.J.E., dan C.C. Tassou. 2000. *Traditional Preservatives-oil and Spices*. Academic Press. London.
- Ogunmefun, O. T., Asoso, O. S., & Olatunji, B. P. 2018. Nutritional values, chemical compositions and antimicrobial activities of fruit juice from pineapple (*Ananas comosus* L.) and coconut (*Cocos nucifera* L.) blends. *Journal of Food Science and Nutrition*, 1(2).
- Papuangan, N dan Nurhasanah. 2014. Potensi Senyawa Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Bakasang Ternate (The Potential Antibacterial Compounds Of Lactic Acid Bacterial Isolated From Bakasang Ternate). *Seminar Nasional Riset Inovatif*. ISSN : 2339-1553.
- Prasetya, Y. A., Winarsih, I. Y., Pratiwi, K. A., Hartono, M. C., & Rochimah, D. N. 2019. Deteksi Fenotipik *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-lactamases* (ESBLs) pada Sampel Makanan di Krian Sidoarjo. *Life Science*, 8(1), 75-85.
- Prasiddhanti, L., & Wahyuni, A. E. T. H. 2015. Karakter permukaan *Escherichia coli* yang diisolasi dari susu kambing peranakan ettawah yang berperan terhadap kemampuan adesi pada sel epitelium ambing. *J. Sains Vet.*, 33, 29-41.
- Putri, A.L.O. dan Endang, K. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*. Vol. 1, No.
- Putri, Y.W., Andani, E.P., Bobby, I.U. 2018. Identifikasi Dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Vagina Wanita Usia Subur. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7.
- Qonita, S.B., Johan, V.S., & Rahmayuni. 2018. Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Nira Aren Terfermentasi Spontan. *Jurnal Jom Faperta* Vol 5,

No 1. April 2018. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau.

- Quijal, F., J. Martí, *et al.* 2020. Isolation, Identification and Investigation of Fermentative Bacteria from Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*): Evaluation of Antifungal Activity of Fermented Fish Meat and By-Products Broths. *Foods*. 9, 576.
- Raharjati, D. P., & Puspawati, N. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 6(1), 29-33.
- Raharjo, S. 2012. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari usus halus itik mojosari (*Anas platyrinchos*) (*Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*).
- Ramadhanti, N., Melia, S., Hellyward, J., & Purwati, E. 2021. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from palm sugar from West Sumatra, Indonesia and their potential as a probiotic. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5).
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. 2021. Isolasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari blondo virgin coconut oil terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56-67.
- Rianto, L., Handayani, I. A., & Septiyani, A. (2015). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Antidiare yang Disebabkan Oleh Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 181. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.33>.
- Rimadhini, F. N., Sumardianto, S., & Romadhon, R. 2020. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.) Dengan Konsentrasi Gula Aren Cair Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 2(1), 54-63.
- Rizal, S., Udayana, S., & Suharyono, S. 2020. Kajian Potensi Sari Kulit Buah Nanas Yang Difermentasi Dengan *Lactobacillus Casei* Sebagai Minuman Probiotik Secara In Vivo. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 12-20.
- Romadhon, Subagiyo, Sebastian M. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria Pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan* Vol. 8. No. 1.
- Rosmaina, R., Elfianis, R., Almaksur, A., & Zulfahmi, Z. 2021. Minimal number of morphoagronomic characters required for the identification of

- pineapple (*Ananas comosus*) cultivars in peatlands of Riau, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(9).
- Safitri, N., Titi, C.S., Anja, M. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. Vol. 2 No. 2.
- Samboja, L. D. G., Purwijantiningih, E., & Yuda, I. 2019. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari fermentasi udang (cincalok) terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dan *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food and Life Sciences*, 3(1), 11-20.
- Santosaningsih, D., Zuhriyah, L., & Nurani, M. 2013. *Staphylococcus aureus* pada komunitas lebih resisten terhadap ampisilin dibandingkan isolat rumah sakit. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(4), 204-201.
- Sapitri, A., & Afrinasari, I. 2019. Identifikasi Es *Cherichia Coli* Pada Cincalok Yang Dijual Di Pasar Baru Stabat. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 2(2), 18-23.
- Sari, M. 2015. Uji Bakteriologis Dan Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Shigella Sp* Pada Makanan Gado-Gado Di Kantin.
- Sari, R. A., & Nofiani, R. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat genus *Leuconostoc* dari pekasam ale-ale hasil formulasi skala laboratorium. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1).
- Sari, R., Lia D., Pratiwi, A. 2016. Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharm Sci Res*. Vol. 3 No. 2.
- Sarwendah, S., Yusliana, Y., Laia, H. C. G., Daely, P. J., & Chiuman, L. 2020. Uji Daya Hambat Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr Var. Queen) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1), 87-93.
- Sasmita, Aliansyah, H., Aisyah, N.S., Sukriani K. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam Dan Sawi). *As-Syifaa*. Vol 10 (02) : Hal. 141-151.
- Setiabudy, R. 2012. Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Dalam S. S. Gunawan editor (penyunting). Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Shamsudin, R., Zulkifli, N. A., & Kamarul Zaman, A. A. 2020. Quality attributes of fresh pineapple-mango juice blend during storage. *International Food Research Journal*, 27(1).

- Sousa, A.M., Machado, I., Nicolau, A. & Pereira, M.O. (2013). Improvements On Colony Morphology Identification Towards Bacterial Profiling. *Journal Of Microbiological Methods*, 95, 327-335.
- Subagiyo., Sebastian, M dan Triyanto. 2015. Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium *deMan, Rogosa and Sharpe* (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*. Vol. 18(3).
- Suhaeni, S., & Syakur, A. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangke Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(2), 79-83.
- Suhartatik, N. Dkk. 2014. Karakteristik Fermentatif Medium *deMann Rogosa Sharpe* (Mrs) Antosianin Beras Ketan Hitam (*Oryza Sativa* Var. Glutinosa) Menggunakan *Pediococcus Pentosaceus* N11.16. *Agritech*, Vol. 34, No. 3.
- Supriyatna, A., Rohimah, I., Suryani, Y., & Sa'adah, S. 2012. Isolation and identification of cellulolytic bacteria from Waste organic vegetables and fruits for role in making Materials biogas. *JURNAL ISTEK*, 6(1-2).
- Syukur, S. 2017. Bioteknologi Dasar Dan Bakteri Asam Laktat Antrimikrobial. Carono Pustaka Universitas Andalas.
- Syukur, S. Fachrial, E. Jamsari. 2014. Isolation, antimicrobial activity and protein bacteriocin characterization of lactic acid bacteria isolated from dadih in Solok, West Sumatera, Indonesia. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 5(6) : 1096-1104.
- Tjahjaningsih, W., Masithah, E. D., Pramono, H., & Suciati, P. 2016. Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla* spp.) Sebagai Kandidat Probiotik [Activity Enzymatic of Isolate Lactic Acid Bacteria from the Digestive Tract of Mud Crab (*Scylla* spp.) as a Candidate Probiotics]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 8(2), 94-108.
- Tuang, A. 2021. Analisis Analisis Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diare pada Anak. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 534-542.
- Urnemi, Syukur, S., Endang, P., Sanusi, I., Jamsari. 2012. Potensi Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik Antimikroba Patogen Asal Fermentasi Kakao Varietas Criollo. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Vol. 6 No. 12.
- Wardani, E. K., Zulaekah, S., & Purwani, E. 2017. Pengaruh penambahan sari buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap jumlah bakteri asam laktat (BAL) dan nilai pH soyghurt. *Jurnal Kesehatan*, 10(1), 68-74.

- Wardinal, W., Safika, S., & Ismail, Y. S. 2019. Identifikasi *Lactobacillus* sp pada Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) Liar Menggunakan KIT API 50 CHL di Stasiun Penelitian Suq Belimbing Aceh Selatan. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 7(1), 49-56.
- Wedajo, Bikila. 2015. Lactic Acid Bacteria: Benefits, Selection Criteria and Probiotic Potential in Fermented Food. *Journal of Probiotics & Health*. Volume 3.
- Wicaksono. 2015. Produksi Tanaman Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr.). Fakultas Pertanian.
- Widianingsih, M., & Setyorini, D. C. (2019). Identifikasi *Staphylococcus aureus* Pada Abon Sapi Di Pasar Pahing Kota Kediri. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 5(2), 99-105.
- Widowati, T. W., Hamzah, B., Wijaya, A., & Pambayun, R. 2014. Sifat Antagonistik *Lactobacillus* sp B441 dan II442 Asal Tempoyak terhadap *Staphylococcus aureus*. *agriTECH*, 34(4), 430-438.
- Wikandari, P. R., Suparmo, S., Marsono, Y., & Rahayu, E. S. (2012). Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 120-125.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. 2019. Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi *Colocasia esculenta* L. secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258.
- Yanti, D. I. W dan Faiza A, D. 2013. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Selama Fermentasi Bakasang. *JPHPI*. Volume 16 Nomor 2.
- Zharfan, R. S., Purwono, P. B., & Mustika, A. 2017. Antimicrobial activity of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) extract against multidrug-resistant of *Pseudomonas aeruginosa*: An in vitro study. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, 6(5), 118-123.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Isolat BAL dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

Isolat	Pengamatan				
	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Endospora	Uji Katalase	Uji Tipe Fermentasi
NN 1	+	Batang	-	-	HM
NN 2	+	Bulat	-	-	HM
NN 3	+	Batang	-	-	HM
NN 4	+	Bulat	-	-	HM
NN 5	+	Bulat	-	-	HM
NN 6	+	Batang	-	-	HM
NN 7	+	Bulat	-	-	HM
NN 8	+	Bulat	-	-	HM
NN 9	+	Bulat	-	-	HM

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

Lampiran 2. Komposisi media yang digunakan dalam penelitian (Sumber Himedia, 2020)

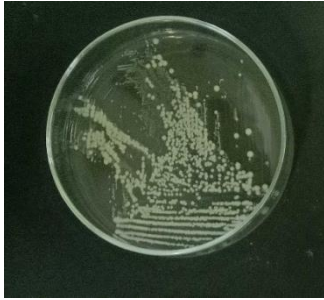
1. *Medium de Mann Rogosa Sharpe Agar (MRS Agar)*

• Proteose peptone	10.000
• HM Peptone B #	10.000
• Yeast extract	5.000
• Dextrose (Glucose)	20.000
• Tween 80 (Polysorbate 80)	1.000
• Ammonium citrate	2.000
• Sodium acetate	5.000
• Magnesium sulphate	0.100
• Manganese sulphate	0.050
• Dipotassium hydrogen phosphate	2.000
• Agar	12.000

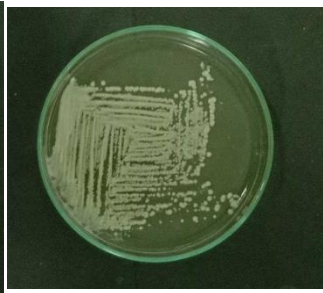
2. *Medium de Mann Rogosa Sharpe Broth (MRS Broth)*

• Proteose peptone	10.000
• HM Peptone B #	10.000
• Yeast extract	5.000
• Dextrose (Glucose)	20.000
• Tween 80 (Polysorbate 80)	1.000
• Ammonium citrate	2.000
• Sodium acetate	5.000
• Magnesium sulphate	0.100
• Manganese sulphate	0.050
• Dipotassium hydrogen phosphate	2.000

Lampiran 3. Gambar Hasil Isolat dari Buah Nanas (*Ananas comosusu*)



NN 1



NN 2



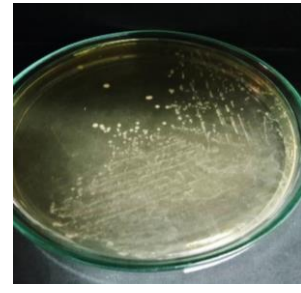
NN 3



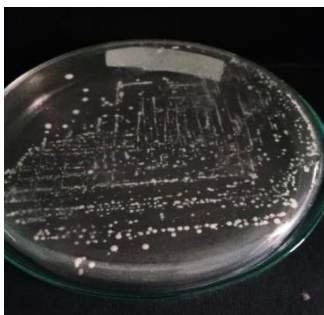
NN 4



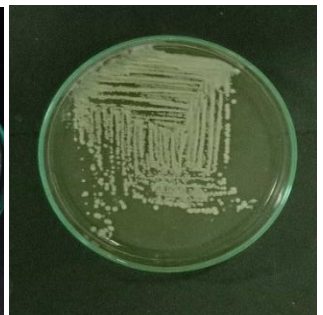
NN 5



NN 6



NN 7




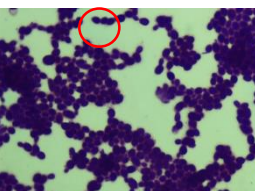
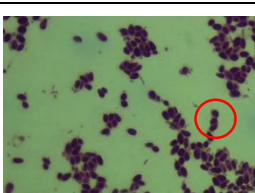




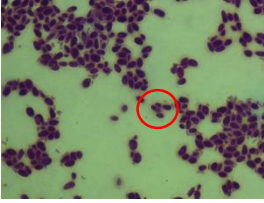
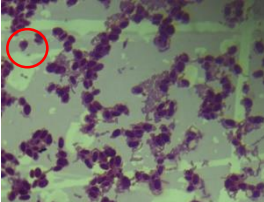
NN 8



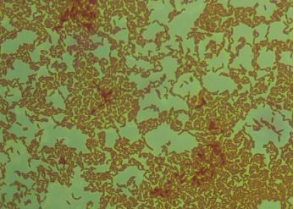
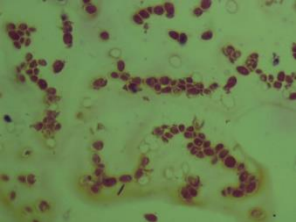

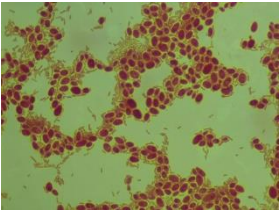
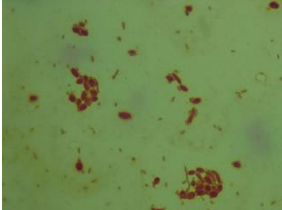
NN 9

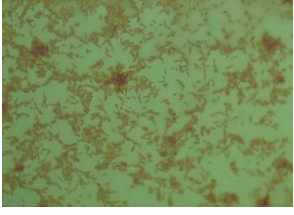
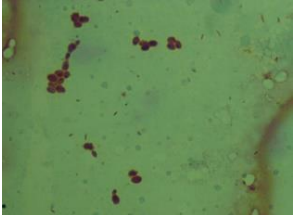
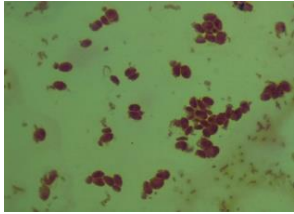
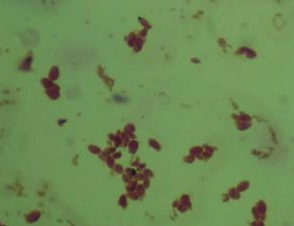
Lampiran 4. Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel	Gambar
NN 1	+	Batang	
NN 2	+	Bulat	
NN 3	+	Batang	
NN 4	+	Bulat	
NN 5	+	Bulat	
NN 6	+	Batang	
NN 7	+	Bulat	

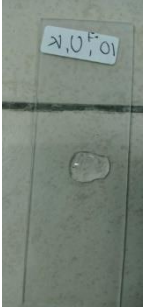



NN 8	+	Bulat	
NN 9	+	Bulat	





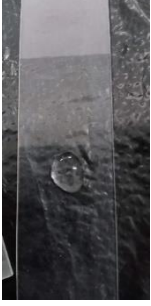
Lampiran 5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

Kode Isolat	Endospora	Gambar
NN 1	-	
NN 2	-	
NN 3	-	
NN 4	-	
NN 5	-	





NN 6	-	
NN 7	-	
NN8	-	
NN 9	-	






Lampiran 6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

Kode Isolat	Uji Katalase	Gambar
NN 1	-	
NN 2	-	
NN 3	-	
NN 4	-	

NN 5	-	
NN 6	-	
NN 7	-	
NN 8	-	
NN 9	-	

Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Nanas (*Ananas comosus*)

Kode Isolat	Tipe Fermentasi	Gambar
NN 1	Homofermentatif	
NN 2	Homofermentatif	
NN 3	Homofermentatif	
NN 4	Homofermentatif	

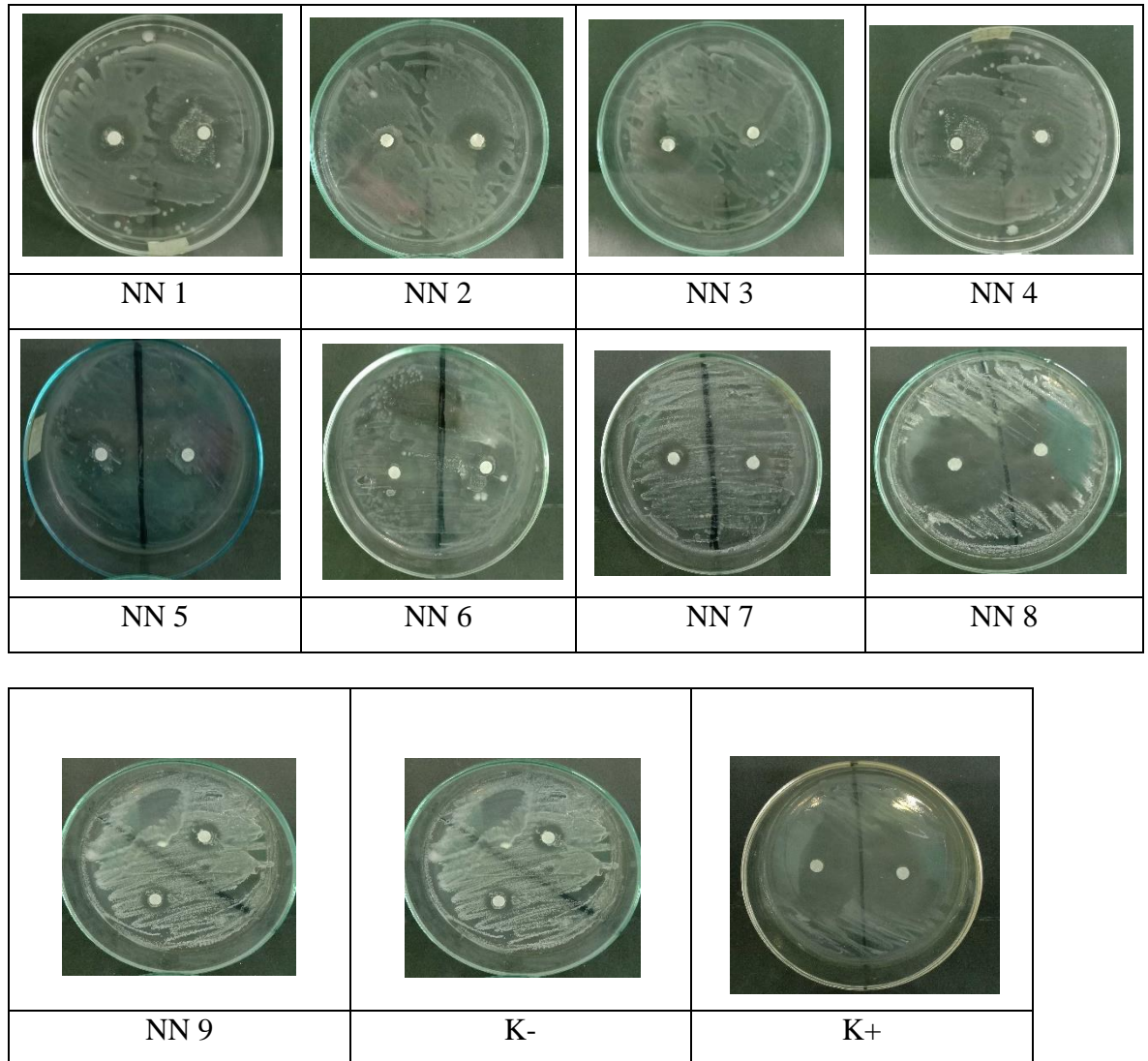
NN 5	Homofermentatif	
NN 6	Homofermentatif	
NN 7	Homofermentatif	
NN 8	Homofermentatif	
NN 9	Homofermentatif	

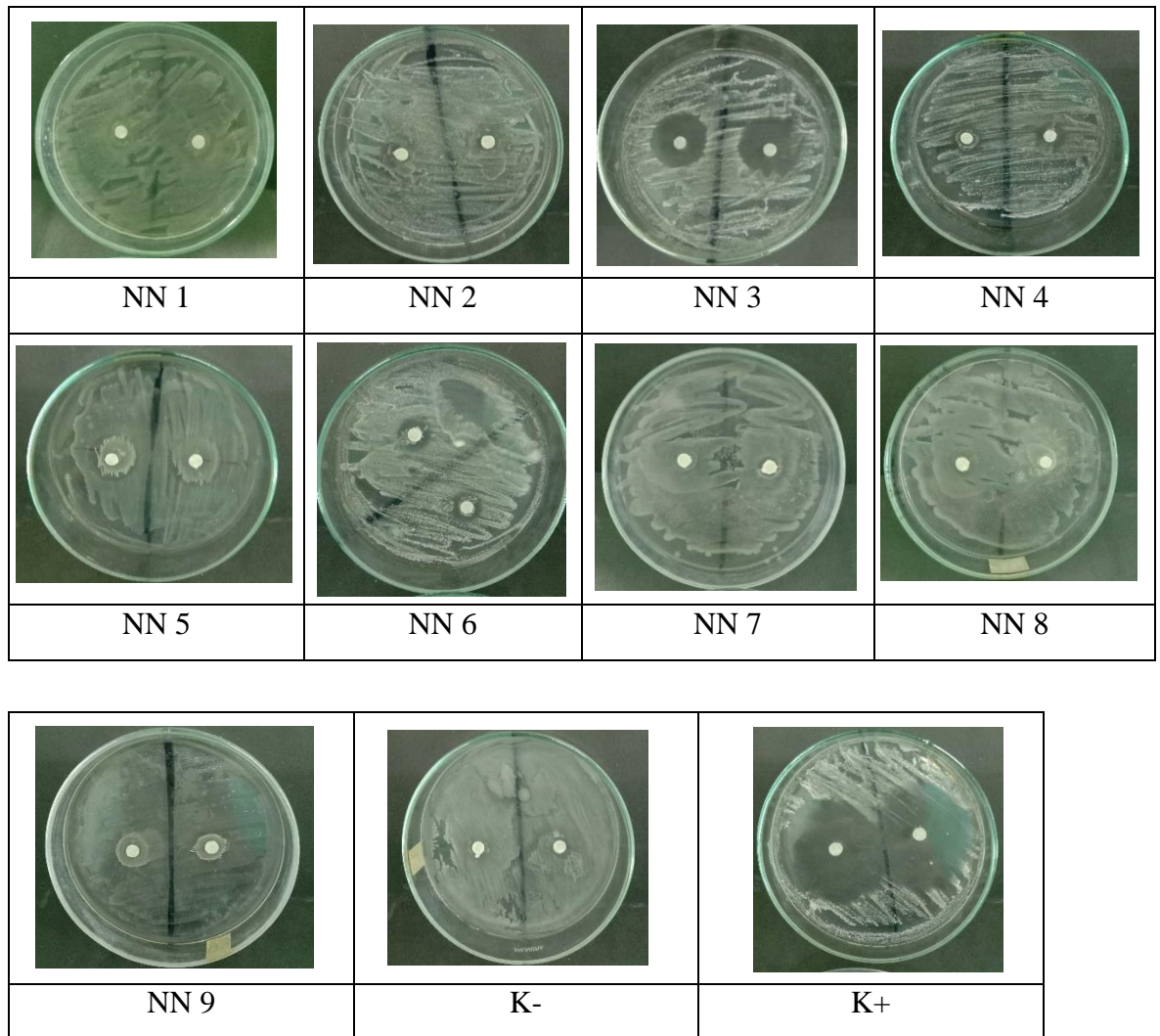
Lampiran 8. Hasil pengukuran zona hambat Isolat BAL dari Buah Nanas (*Ananas comosus*) pada Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

KODE ISOLAT	1	2	JUMLAH	RATA-RATA	KATEGORI ZONA HAMBAT
Kontrol Negatif	0	0	0	0	Tidak ada
NN1	8,25	8,11	16,36	8,18	Sedang
NN2	13,28	12,26	25,54	12,77	Kuat
NN3	10,93	11,18	22,11	11,055	Kuat
NN4	12,73	8,25	20,98	10,49	Kuat
NN5	13,12	13,88	27	13,5	Kuat
NN6	10,16	12,4	22,56	11,28	Kuat
NN7	10,51	11,48	21,99	10,995	Kuat
NN8	15,93	15,81	31,74	15,87	Kuat
NN9	12,01	13,24	25,25	12,625	Kuat
Kontrol Positif	22,84	23,5	46,34	23,17	Sangat kuat

KODE ISOLAT	1	2	JUMLAH	RATA-RATA	KATEGORI ZONA HAMBAT
Kontrol Negatif	0	0	0	0	Tidak ada
NN1	9,59	7,43	17,02	8,51	Sedang
NN2	10,89	9,45	20,34	10,17	Kuat
NN3	13,78	14,75	28,53	14,265	Kuat
NN4	10,60	9,76	20,36	10,18	Kuat
NN5	12,59	11,6	24,19	12,095	Kuat
NN6	11,74	9,07	20,81	10,405	Kuat
NN7	10,76	9,77	20,53	10,265	Kuat
NN8	10,85	11,13	21,98	10,99	Kuat
NN9	13,86	9,41	23,27	11,635	Kuat
Kontrol Positif	20,6	22,26	42,86	21,43	Sangat kuat

Lampiran 9. Aktivitas Antibakteri Bal dari Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*







KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558933 Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dynda Adha Fastabiqul Arsy
NIM : 17620124
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	20/02/2021	Konsultasi Mengenai Judul Penelitian	
2.	09/03/2021	Konsultasi BAB I, II, III	
3.	29/03/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I, II, III	
4.	07/04/2021	Konsultasi dan Revisi BAB 1,II,III	
5.	07/05/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I,II,III	
6.	02/06/2021	ACC Naskah Proposal	
7.	23/11/2021	Konsultasi BAB IV	
8.	06/12/2021	Konsultasi dan Revisi BAB IV dan V	
9.	04/02/2022	Konsultasi dan Revisi BAB IV dan V	
10.	11/02/2022	Konsultasi dan Revisi BAB IV dan V	
11.	23/02/2022	Konsultasi dan Revisi BAB IV dan V	
12.	02/03/2022	ACC Naskah Skripsi	
13.	22/06/2022	ACC Keseluruhan	

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 19710919 20003 2 001





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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dynda Adha Fastabiqul Arsy
 NIM : 17620124
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2021/2022
 Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.SI
 Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	03 Juni 2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB I dan II	
2.	04 Juni 2021	ACC Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi	
3	31 Januari 2022	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB IV	
4	31 Januari 2022	Revisi dan ACC Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB IV	
5	21 Juni 2022	ACC keseluruhan	

Pembimbing Skripsi,

D. r M. Mukhlis Fahrudin, M.SI
 NIP. 20142011409





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933 Website:
<http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi Seminar Proposal

Nama : Dynda Adha Fastabiqul Arsy
NIM : 17620124
JUDUL : **Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus***

No	Tim Cek Plagiasi	Tgl Cek	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc			
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc			
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si			
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	07 maret 2022	24 %	

