PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 YANG DIISOLASI DARI ASINAN SAYUR

SKRIPSI

Oleh:
MAFRUDHOTIN NADZIFAH
NIM. 18620012

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

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 YANG DIISOLASI DARI ASINAN SAYUR

SKRIPSI

Oleh:
MAFRUDHOTIN NADZIFAH
NIM. 18620012

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

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 YANG DIISOLASI DARI ASINAN SAYUR

SKRIPSI

Oleh:
MAFRUDHOTIN NADZIFAH
NIM. 18620012

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal: 29 September 2022

Dosen Pembimbing I	Dosen Pembimbing II
Ir.Hj. Liliek Harianie A.R., M. P	**Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A**
NIP. 19620901 199803 2 001	**NIP. 19740602 200901 1 010**

Mengetahui,
Ketua Program Studi

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

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 YANG DIISOLASI DARI ASINAN SAYUR

SKRIPSI

Oleh:
MAFRUDHOTIN NADZIFAH
NIM. 18620012

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan diterima
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 17 November 2022

Ketua Penguji	**Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si** **NIP. 19650509 199903 2 002**	(.....)
Anggota Penguji 1	**Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc** **NIP. 19900428 2016080 1 2062**	(.....)
Anggota Penguji 2	**Ir.Hj. Liliek Harianie A.R.,M.P** **NIP. 19620901 199803 2 001**	(.....)
Anggota Penguji 3	**Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A** **NIP. 19740602 200901 1 010**	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19740118 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah. Dengan rasa syukur kepada Allah SWT, skripsi ini dipersembahkan kepada semua orang yang telah mendoakan, memotivasi, serta mendukung penulis dalam menyelesaikannya, khususnya kepada:

1. Kedua Orang Tua saya, Bapak Suradi dan Ibu Jannah yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
2. Kakak saya Muslihatul Ummah dan keluarga besar yang telah mendukung dan memberi banyak bantuan kepada saya
3. Kholifah Holil, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi
4. Ir.Hj. Liliek Harianie A.R.,M.P, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik
5. Dr. H. M. Imamudin, Lc., M. A, selaku dosen pembimbing agama yang telah sabar memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam
6. Retno Novitasari H. D., M.Sc., selaku laboran Mikrobiologi yang memberi arahan dan bimbingan selama penelitian
7. Sahabat-sahabat terdekat yang selalu menemani, membantu, serta selalu memotivasi saya yakni Atiek Intan Anggraeni, Ilvi Nurdhiana, Muhimmatul Karimah, Zuhroh Widdatur, Roisatul Umiyah
8. Teman-teman seperjuangan saya di RTMI yang selalu memberikan dukungan dan motivasi
9. Teman-teman penulis dan seperjuangan penelitian yang banyak memberikan bantuan yakni Endah Eni, Tazkiyatun Nufus.
10. Serta teman-teman Booster Biologi 2018 yang telah memberikan semangat dan senantiasa memotivasi penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Mafrudhotin Nadzifah
NIM	: 18620012
Program Studi	: Biologi
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 yang Diisolasi dari Asinan Sayur

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

Malang, 01 September 2022

Yang membuat pernyataan,

Mafrudhotin Nadzifah

NIM. 18620012

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

MOTTO

Nikmati apapun yang dijalani sekarang, karena pohon yang besar butuh proses yang panjang untuk tumbuh.

Kalau lelah, berjalanlah
Tapi jangan pernah berbalik arah

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 YANG DIISOLASI DARI ASINAN SAYUR

Mafrudhotin Nadzifah, Liliek Harianie, M. Imamudin

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

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri anaerob fakultatif yang mampu hidup pada berbagai habitat yang luas. Salah satunya dari asinan. Selain menghasilkan asam laktat, spesies BAL yaitu *L. plantarum* FNCC 0026 dapat memproduksi bakteriosin yang merupakan suatu protein yang bersifat antimikroba. Purifikasi bakteriosin diperlukan untuk mendapatkan bakteriosin murni tanpa adanya campuran dari senyawa lain yang dihasilkan oleh BAL. Karakterisasi bakteriosin dapat membantu mengetahui stabilitas bakteriosin pada berbagai kondisi yang berguna untuk mendapatkan kondisi yang sesuai untuk pengaplikasian bakteriosin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas bakteriosin yang dihasilkan *L. plantarum* FNCC 0026 pada berbagai suhu pemanasan, pH, dan sensitivitasnya terhadap enzim proteolitik. Stabilitas bakteriosin ditentukan dengan menguji aktivitas hambatnya pada variasi suhu pemanasan (suhu ruang, 65 80, dan 100)°C; variasi pH (2, 4, 6, dan 8) dan sensitivitasnya terhadap enzim proteolitik (pepsin dan tripsin). Data diameter zona hambat (mm) dianalisis menggunakan *Software* SPSS versi 25, kemudian dianalisis menggunakan analisis ANOVA (*Analysis of Variance*) *one way*. Apabila hasil analisa menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (berbeda nyata), maka dilanjutkan uji lanjut menggunakan metode *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), sedangkan data penurunan protein dianasisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 stabil pada suhu ruang hingga suhu 100°C, stabil pada kisaran pH 2 – 8 yang ditandai dengan masih ditemukanannya zona hambat pada uji antagonistik dengan bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*). Bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 sensitif terhadap enzim proteolitik tripsin dan pepsin dengan konsentrasi penurunan protein sebesar 67,56% dan 78,18%.

Kata Kunci: *Bakteriosin, Lactobacillus plantarum* FNCC 0026, *stabilitas, stabilitas sensitivitas*

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOSIN *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 ISOLATED FROM PICKLED VEGETABLES

Mafrudhotin Nadzifah, Liliek Harianie, M. Imamudin

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

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are facultative anaerobic bacteria that can live in a wide variety of habitats. One of them is pickled. In addition to producing lactic acid, LAB species, namely *L. plantarum* FNCC 0026 can produce bacteriocin which is an antimicrobial protein. Bacteriocin purification is needed to obtain pure bacteriocin without any mixture of other compounds produced by LAB. The characterization of bacteriocins can help determine the stability of bacteriocins under various conditions which are useful for obtaining suitable conditions for the application of bacteriocins. This study aims to determine the stability of the bacteriocin produced by *L. plantarum* FNCC 0026 at various heating temperatures, pH, and its sensitivity to proteolytic enzymes. The stability of bacteriocin was determined by testing its inhibitory activity at various heating temperatures (room temperature, 65 80, and 100)°C; variations in pH (2,4,6, and 8) and their sensitivity to proteolytic enzymes (pepsin and trypsin). Inhibition zone diameter data (mm) was analyzed using SPSS software version 25, then analyzed using one-way ANOVA (*Analysis of Variance*) analysis. If the results of the analysis show that there is a significant difference (significantly different), then the further test is continued using the *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) method, while the protein reduction data is analyzed descriptively. The results showed that the bacteriocin from *L. plantarum* FNCC 0026 was stable at room temperature to 100°C, stable in the pH range of 2-8 which was indicated by the presence of an inhibitory zone in the antagonistic test with test bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*). The bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 was sensitive to the proteolytic enzymes trypsin and pepsin with a decreased protein concentration of 67.56% and 78.18%, respectively.

Keywords: Bacteriocin, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026, stability, sensitivity stability

إنتاج وخصائص البكتريوسين *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 معزول من الخضروات المخللة

مفروضة نظيفة ،ليليك هارياني ،محمد امام الدين
قسم علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا
جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

الملخص

الكلمات الرئيسية : البكتريوسين ، *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026، الاستقرار، استقرار الحساسية

بكتيريا حمض اللاكتيك (LAB)هي بكتيريا لاهوائية اختيارية يمكن أن تعيش في مجموعة متنوعة من الموائل . واحد منها مخلل .بالإضافة إلى إنتاج حمض اللاكتيك ، يمكن أن تنتج أنواع LAB، وهي *L. plantarum* FNCC 0026، البكتريوسين وهو بروتين مضاد للميكروبات .هناك حاجة إلى تنقية البكتريوسين للحصول على البكتريوسين النقي دون أي خليط من المركبات الأخرى التي ينتجها LAB. يمكن أن يساعد توصيف البكتريوسينات في تحديد استقرار البكتريوسينات في ظل ظروف مختلفة والتي تكون مفيدة للحصول على ظروف مناسبة لتطبيق البكتريوسينات .تهدف هذه الدراسة إلى تحديد ثبات البكتريوسين المنتج بواسطة *L. plantarum* FNCC 0026في درجات حرارة مختلفة ، ودرجة الحموضة ، وحساسيتها للإنزيمات المحللة للبروتين .تم تحديد ثبات البكتريوسين باختبار نشاطه المثبط عند درجات حرارة مختلفة (درجة حرارة الغرفة، 65، 80 و 100 درجة مئوية) ؛ الاختلافات في درجة الحموضة (2، 4، 6، 8) وحساسيتها للإنزيمات المحللة للبروتين البيبسين والتريبسين .(تم تحليل بيانات قطر منطقة التثبيط (مم) باستخدام الإصدار 25 من برنامج SPSS، ثم تم تحليلها باستخدام تحليل ANOVA ثنائي الاتجاه تحليل التباين .إذا أظهرت نتائج التحليل أن هناك فرقًا كبيرًا مختلفًا بشكل كبير ، فسيستمر الاختبار الإضافي باستخدام طريقة *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)، بينما يتم تحليل بيانات تقليل البروتين بشكل وصفي .أظهرت النتائج أن البكتيريا من *L. plantarum* FNCC 0026 كانت مستقرة عند درجة حرارة الغرفة حتى 100 درجة مئوية ، مستقر في نطاق الأس الهيدروجيني من 8-2والذي يتضح من وجود منطقة مثبطة في الاختبار المضاد لبكتيريا الاختبار (*Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*) كان البكتريوسين المنتج بواسطة *L. plantarum* FNCC 0026 حساسًا للأنزيمات المحللة للبروتين التربسين والبيبسين مع انخفاض تركيز البروتين بنسبة 67.56٪ و 78.18٪ على التوالي.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Bismillahirrahmanirrahim, Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. 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 Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie A. R, M. P. dan Dr. M. Imamudin, Lc., M.A., selaku dosen pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan hati untuk memberikan pengarahan, motivasi, nasehat, kritik, dan saran dalam penyelesaian tugas akhir.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi
6. Kedua Orang Tua saya, Bapak Suradi dan Ibu Jannah yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
7. Teman-teman seperjuangan Booster Biologi 2018 yang telah memberikan semangat dan senantiasa memotivasi penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Mereka yang telah membantu dalam doa, dukungan, sumbangan pemikiran, semangat, dan lain sebagainya.

Penulis menyadari dalam penyusunan proposal skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri maupun bagi pembaca.

Malang, 17 Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **iv**
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN ..... **v**
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI ..... **vi**
MOTTO ..... **vii**
ABSTRAK ..... **viii**
ABSTRACT ..... **ix**
الملخص ..... **x**
KATA PENGANTAR ..... **xi**
DAFTAR ISI ..... **xii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**
DAFTAR TABEL ..... **xv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xvi**

BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 9
1.3 Tujuan 9
1.4 Hipotesis 10
1.5 Manfaat 10
1.6 Batasan Masalah 11

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **12**
2.1 Bakteri Asam Laktat 12
2.2 *Lactobacillus plantarum* 14
2.3 Bakteriosin 15
2.4 Biosintesis Bakteriosin 19
2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Proses Produksi Bakteriosin 19
2.5.1 Media 19
2.5.2 pH produksi 19
2.5.3 Suhu 20
2.5.4 Nutrisi 20
2.5.5 Enzim Proteolitik 20
2.6 Mekanisme Penghambatan Senyawa Antimikroba 21
2.7 Produksi Bakteriosin 23
2.8 Purifikasi dan Dialisis Bakteriosin 24
2.9 Karakterisasi Bakteriosin 26
2.10 Bakteri Patogen 27
2.10.1 *Staphylococcus aureus* 28
2.10.2 *Escherichia coli* 29

BAB III METODE PENELITIAN 31
3.1 Jenis penelitian 31
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian 31
3.3 Variabel Penelitian 31
3.4 Alat dan Bahan 32
3.5 Prosedur Penelitian 32
3.5.1 Pembuatan Media 32
3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan 33
3.5.3 Peremajaan Bakteri 34
3.5.4 Pembuatan Inokulum 34
3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* 34
3.5.6 Produksi Bakteriosin 35
3.5.7 Purifikasi Parsial dengan Presipitasi Amonium Sulfat 35
3.5.8 Dialisis 36
3.5.9 Karakterisasi Bakteriosin 36
3.5.10 Pengukuran Konsentrasi Protein 38
3.6 Analisis Data 39

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 40
4.1 Produksi Bakteriosin 40
4.2 Karakterisasi Bakteriosin 44
4.2.1 Stabilitas Bakteriosin terhadap suhu pemanasan 44
4.2.2 Stabilitas Bakteriosin terhadap variasi pH 52
4.3 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik 56
4.4 Bakteriosin dan Bakteri dalam Pandangan Islam 59

BAB V PENUTUP 63
5.1 Kesimpulan 63
5.2 Saran 63

DAFTAR PUSTAKA 64
LAMPIRAN 76

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

Gambar 2.1 *Lactobacillus plantarum* 15
Gambar 2.2 Biosintesis Bakteriosin.....19
Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* 29
Gambar 2.4 *Escherichia coli*.....30
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Isolat *L.plantarum* FNCC 0026 40
Gambar 4.2 Aktivitas Penghambatan Bakteriosin terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* 44
Gambar 4.3 Histogram Persentase (%) Penurunan Konsentrasi Protein Bakteriosin Murni setelah Didegradasi Enzim proteolitik 57

DAFTAR TABEL

Daftar Tabel Halaman

Tabel 4.1 Hasil Uji Antagonistik Bakteriosin terhadap Bakteri uji 43
Tabel 4.2 Pengaruh Variasi Suhu Pemanasan terhadap Diameter Zona Hambat (mm) Bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 pada Bakteri Uji 45
Tabel 4.3 Pengaruh Variasi pH terhadap Diameter Zona Hambat (mm) Bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 pada Bakteri Uji.....52
Tabel 4.4 Konsentrasi Protein Bakteriosin dengan Penambahan Enzim Proteolitik.....56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan.....76
L.1.1 Pembuatan larutan NaOH 1N 76
L.1.2 Pembuatan $BaCl_2$ 76
L.1.3 Pembuatan Yeast Exktrak 3% 76
L.1.4 Pembuatan Amonium sulfat.....76
Lampiran 2. Pembuatan Kurva Standar Protein.....76
L.2.1 Pembuatan larutan Stok.....76
L.2.2 Pembuatan larutan Kurva Standar Protein.....76
L.2.3 Hasil Pengukuran Absorbansi BSA.....77
L.2.4 Perhitungan Konsentrasi Protein Bakteriosin.....78
L.2.5 Data Absorbansi dan Konsentrasi Protein.....78
Lampiran 3. Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026.....78
L.3.1 Hasil Pengukuran OD *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026.....78
L.3.2 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026.....79
Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Zona Hambat dan penurunan protein.....79
L.4.1 Stabilitas Bakteriosin terhadap Variasi Suhu Pemanasan.....79
L.4.2 Stabilitas Bakteriosin terhadap pH 80
L.4.3 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik.....80
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....81
Lampiran 6. Aktivitas Bakteriosin terhadap Bakteri Uji 82
Lampiran 7. Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Diameter Zona Hambat Bakteriosin dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan...85

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keamanan pangan merupakan suatu kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia (Saparinto dan Hidayati, 2006). Salah satu usaha mengontrol keberadaan mikroorganisme pada bahan pangan dapat dilakukan dengan metode pengawetan/preservasi. Bahan pengawet yang sering digunakan adalah pengawet sintetis karena mudah digunakan dan harganya terjangkau, akan tetapi penambahan pengawet sintetis memiliki resiko bagi kesehatan tubuh, jika terakumulasi secara terus menerus dalam waktu yang lama. Pengawet sintetis bisa memicu pertumbuhan sel kanker akibat senyawa karsiogenik dalam pengawet (Hayati 2015). Oleh karena itu, penggunaan bahan yang alami, aman, dan biopreservatif alternatif yang efektif sangat dibutuhkan.

Bakteri asam laktat merupakan *food grade microorganism* karena tidak menghasilkan toksin sehingga aman untuk dikonsumsi dan sebagai mikroorganisme yang *generally recognized as safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak berisiko bagi kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri berguna bagi kesehatan (Kusmiati dan Malik, 2002). Bakteri asam laktat diketahui memiliki potensi untuk memproduksi senyawa antimikroba, eksopolisakarida, dan senyawa penghambat seperti bakteriosin yang mampu menghambat bakteri patogen (Trang Le *et al*., 2019 dalam Soenarno *et al.* 2020).

Allah *Subhanahu wa ta'ala*, berfirman dalam al-Qur'an surah al-Hijr [15]: 20):

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَّسْتُمْ لَهُ بِرٰزِقِيْنَ ٢٠

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"* (al-Qur'an surah al-Hijr [15]: 20).

Menurut Tafsir Kementrian Agama Republik Indonesia (2019) ayat ini menerangkan anugerah Allah SWT yang tidak terhingga kepada manusia, yaitu Dia telah menciptakan bermacam-macam keperluan hidup bagi manusia. Allah SWT telah menjadikan bumi sebagai kebutuhan dasar kehidupan manusia berupa buah-buahan dan biji-bijian. Allah juga menciptakan makhluk-makhluk, hewan dan berbagai hewan ternak yang hanya disediakan oleh Allah SWT untuk mereka. Rejeki yang Allah berikan kepada makhluk-Nya bisa dalam berbagai bentuk. Salah satunya rejeki tersebut berupa protein bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat.

Bakteriosin merupakan produk metabolit sekunder dari bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki sifat antimikroba (Jati, 2012). Pemanfaatan bakteriosin dari bakteri asam laktat sudah banyak dilakukan diantaranya bakteriosin asal *Lactobacillus plantarum* DJ3 yang diaplikasikan pada daging sapi mampu menurunkan jumlah total bakteri selama 12 jam penyimpanan yaitu dari $1.5x10^{11}$ menjadi $2x10^{9}$ (Hariani, 2013). Nisin yang diaplikasikan pada air kelapa mampu menghambat pertumbuhan bakteri selama 10 hari penyimpanan, dan nilai sensori masih baik pada hari ke-7 (Sumonsiri *et al.*, 2019). Perlakuan bakteriosin *L. plantarum* IIA-1A5 10% mampu mempertahankan kualitas daging dada ayam segar

pada ambang batas maksimum cemaran mikroba ($1x10^6$ cfu g^{-1}) hingga jam ke-20 pada suhu ruang sedangkan tanpa bakteriosin hanya sampai jam ke-5 (Nurraifah *et al.*, 2021)

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat sangat potensial digunakan sebagai pengawet makanan alami (Singh *et al*., 2013). Bakteriosin memiliki sifat yang menguntungkan di antaranya yaitu tidak toksik, berasal dari bahan alami, termostabil, mudah terdegradasi oleh enzim pencernaan, serta tidak menimbulkan perubahan rasa dan tidak menimbulkan bau pada produk pangan (Patrovsky *et al*., 2016 dalam Fatimah *et al.*,2020). Kemampuan bakterisidal dari bakteriosin sebagai biopreservatif ini dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antibakteri yang aman dan juga efektif (Fatimah *et al.,* 2020). Keberagaman dan ketersediaan BAL yang cukup tinggi dapat dimanfaatkan untuk peningkatan produksi dan karakterisasi bakteriosin yang kemudian dapat diaplikasikan.

Manusia sebagai hamba Allah SWT, harus mampu mengembangkan ide, nalar dan pengamatan tentang segala sesuatu yang ada di Bumi. Salah satunya adalah mengkarakterisasi bakteriosin yang dapat bermanfaat bagi banyak orang. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah al-Imran [3]: 190-191):

اِنَّ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَاخْتِلَافِ الَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَاٰيٰتٍ لِّاُولِى الْاَلْبَابِ ۙ ١٩٠ الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّقُعُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ ۚ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًا ۚ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ١٩١

Artinya: "*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah*

> *Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka"* (al-Qur'an surah al-Imran [3]: 190-191).

Berdasarkan Tafsir Al-Maraghi (1986), ayat tersebut menjelaskan bahwa orang-orang yang berakal (ulul albab), yaitu orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah, hidayah, dan menggambarkan keagungan Allah SWT. Dari firman Allah ini, terdapat perintah Allah SWT kepada manusia yang telah diberi kelebihan akal untuk meneliti dan mengkaji segala sesuatu yang ada di langit dan bumi, karena tidak ada hasil ciptaan Allah SWT yang sia-sia. Semua ciptaan Allah memiliki manfaat dan harus dimanfaatkan. Sebagai manusia yang berakal, merupakan bentuk petunjuk bagi manusia untuk lebih mengkaji dan meneliti segala ciptaan-Nya. Salah satunya dengan melakukan penelitian tentang bakteriosin ini.

Tiga aspek penting dalam penelitian mengenai bakteriosin adalah mengenai produksi, purifikasi, dan karakterisasi (Ogunbawo, 2003). Produksi bakteriosin dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu jenis bakteri penghasil (Todorof & Dick, 2004 dalam Rosidah, 2018). Bakteriosin dapat diproduksi oleh *Lactococcus*, *Lactobacillus* dan *Pediococcus* yang berasal dari berbagai sumber yang berpotensi sebagai agen probiotik (Siswara *et al.*, 2019). *Lactobacillus* adalah genus terbesar dari famili *Lactobacillaceae* (Huang *et al*. 2018). Salah satu spesies dari genus *Lactobacillus* yang potensial menghasilkan bakteriosin adalah *Lactobacillus plantarum*.

L. plantarum dapat diisolasi dari berbagai sumber, salah satunya dari asinan sayur seperti *L. plantarum* FNCC 0026 yang digunakan pada penelitian ini. Menurut Fitriyani (2012) *L. plantarum* FNCC 0026 memiliki karakteristik diantaranya yaitu mampu tumbuh pada suhu 37°C hingga 50 ^{o}C serta pada pH 3

hingga pH 9, dan mampu tumbuh pada penambahan garam hingga 6,5%, sehingga digunakan isolat *L.plantarum* FNCC 0026 ini diharapkan bakteriosin yang dihasilkan juga mampu stabil pada spektrum suhu dan pH yang lebih luas.

L. plantarum menghasilkan bakteriosin yang memiliki spektrum penghambatan luas terhadap bakteri patogen dan penyebab pembusukan makanan. Hal ini dibuktikan pada penelitian Ogunbunowo (2003) *L. plantarum* F1 yang diisolasi dari fermentasi singkong menunjukkan spektrum penghambatan terbesar yang menghambat 24 dari 32 strain indikator. Anas (2014) menyebutkan bahwa *L. plantarum* yang diisolasi dari susu kambing mempunyai kemampuan untuk menghambat mikroorganisme patogen dengan daerah penghambatan sebesar 28 mm dibandingkan BAL lainnya yaitu *L.casei* mampu menghambat mikroorganisme patogen sebesar 26 mm, *L. rhamnosus* sebesar 19 mm, *L. acidophilus* sebesar 16 mm dan *L. sakei* sebesar 25 mm.

Setiap bakteriosin memiliki keunikan dan karakteristik tertentu dalam menghambat mikroba patogen. Seperti halnya bakteriosin *L. plantarum* asal bekasam daging sapi (Suryani *et al.*, 2012, Ayuningtyas, 2017), dadih (Nurul 2019), dadih susu kerbau (Sunaryanto and Marwoto, 2013) bubur fermentasi (Omar *et al.*, 2006) hingga asal makanan fermentasi tradisional Pliek U (Fachrial dan Harmileni, 2018) telah banyak dikarakterisasi. Sedangkan eksplorasi dan karakterisasi bakteriosin *L. plantarum* asal asinan sayur belum banyak dikarakterisasi. Inilah sebabnya mengapa eksplorasi, pemurnian dan karakterisasi bakteriosin baru perlu dilakukan dan akan selalu bermanfaat.

Karakterisasi menjadi proses penting setelah produksi bakteriosin. Karakterisasi dapat dilakukan dengan uji stabilitas pada suhu pemanasan, pH dan

uji sensitivitas terhadap enzim proteolitik (Sunaryanto dan Tarwadi, 2015). Kestabilan pada suhu tinggi merupakan salah satu karakteristik bakteriosin yang diperlukan sebagai biopreservasi pangan karena pada umumnya proses produksi pangan menggunakan suhu pemanasan (Ningsih *et al*, 2018). Pada prinsipnya penggunaan suhu tinggi dalam proses pengolahan bahan pangan dapat dibedakan menjadi empat macam yaitu *pasteurisasi*, *blanching*, *sterilisasi* dan pemasakan. *Blanching* dan *pasteurisasi* merupakan pemanasan bahan pangan dengan menggunakan suhu kurang dari 100°C. Buckle (1987) mengatakan bahwa suhu pasteurisasi adalah 65°C selama 30 menit. *Blanching* pada umumnya dilakukan pada suhu 80^{0}C. Selain *blanching* dan *pasteurisasi* pemanasan bahan pangan juga dilakukan dengan cara pemasakan. Pemasakan bahan pangan dapat dilakukan dengan cara kering maupun basah dengan suhu 100°C (Sobari, 2019). Berdasarkan hal tersebut variasi suhu pemanasan pada penelitian ini adalah suhu ruang (kontrol), 65^{0}C, 80^{0}C dan 100°C sebagai representasi masing-masing proses pengolahan pangan pada suhu tinggi.

Faktor pH seringkali menjadi pertimbangan bagi bahan pengawet yang akan digunakan pada bahan pangan. Menurut Fardiaz (1989) dalam (Sitompul *et al*. 2015) pada pengolahan pangan, makanan dapat dibedakan atas beberapa kelompok berdasarkan pH nya yakni bahan pangan berasam rendah, bahan pangan asam, dan bahan pangan berasam tinggi. Bahan pangan yang memiliki pH contohnya seluruh bahan pangan hewani diantaranya daging, susu, telur, ikan dan beberapa sayuran seperti jagung dan buncis, yang mana bahan pangan tersebut mudah terjadi pembusukan (Sobari *et al.*, 2019). Selain itu, beberapa bakteri patogen dan pembusuk makanan seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat

bertahan hidup pada kondisi pH yang rendah (asam). Dengan demikian penggunaan bahan pengawet harus tahan terhadap berbagai kondisi pH agar produk tersebut tahan lama dan bebas mikroorganisme. Pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas bakteriosin dilakukan untuk mengetahui ketahanan bakteriosin terhadap berbagai macam pH.

Selain stabilitas pada suhu dan pH, uji sensitivitas bakteriosin terhadap enzim proteolitik merupakan kriteria utama dalam karakterisasi bakteriosin. Enzim proteolitik merupakan enzim golongan hidrolase yang akan memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana (Setyati dan Subagiyo, 2012). Menurut Jagadesswari (2010) Bakteriosin adalah komponen ekstraseluler berupa peptida atau senyawa berupa protein antimikroba. Sehingga dilakukan uji ini untuk membuktikan bahwa bakteriosin merupakan protein alami yang dapat dirusak oleh salah satu enzim yang terdapat didalam saluran pencernaan dan membuatnya aman dikonsumsi oleh manusia selain itu menjadi syarat utama diterimanya sebagai agen biopreservatif (Sari *et al*., 2018). Enzim proteolitik yang digunakan dalam karakterisasi bakteriosin adalah enzim tripsin dan pepsin yang keduanya merupakan enzim proteolitik utama dalam sistem pencernaan manusia (Dunn, 2001). Pada penelitian ini sensitivitas bakteriosin diuji melalui pengukuran konsentrasi protein yang terkandung di dalam bakteriosin sebelum dan setelah penambahan enzim tripsin dan pepsin sehingga didapatkan presentase penurunan protein bakteriosin yang terdegradasi.

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa bakteriosin tahan terhadap suhu pemanasan, pH dan sensitif terhadap enzim proteolitik. Seperti yang telah dilaporkan Ningsih *et al.,* (2018) bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* yang

diisolasi dari es pisang ijo dapat tumbuh pada suhu pemanasan 40°C,60°C, 80°C, 100°C dan tahan terhadap pH 2-8 yang ditandai dengan masih adanya zona hambat pada uji antibakteri. Sunaryanto dan Tarwadi (2015) Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* stabil pada pemanasan sampai dengan 70 °C dan stabil pada rentang pH 3 sampai dengan 7. Lv *et al.* (2018) menyatakan bahwa plantaricin JY22 yang diisolasi dari usus ikan mas tetap aktif pada kisaran pH 2,5 hingga 5,5. Menurut Sari *et al*., (2018) stabilitas bakteriosin berbeda-beda terhadap kisaran pH dan suhu. Dilain sisi (Lei *et al.,* 2020) menunjukkan bahwa enzim proteolitik seperti pepsin, papain, tripsin, dan proteinase K mempengaruhi aktivitas zat antimikroba *L. plantarum* zrx03. Aktivitas antibakteri sisa dari fermentasi supernatan setelah perlakuan tripsin hanya 64,52%, dan 79,03% setelah penambahan pepsin.

Stabilitas bakteriosin terhadap variasi suhu dan pH dilihat dari zona hambat yang dihasilkan dari uji antibakteri terhadap bakteri uji Gram positif *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif *Escherichia coli.* Kedua bakteri tersebut merupakan kontaminan yang paling sering dijumpai pada bahan pangan (Istiani dan Agustiani, 2021). Pada dasarnya struktur penyusun dinding sel bakteri Gram positif dan negatif berbeda. Bakteri Gram positif tersusun atas membran tunggal yang dilapisi peptidoglikan yang tebal. Selain itu dinding sel bakteri Gram-positif memiliki asam teikoat dan teikuronat. Pada bakteri Gram negatif tersusun atas membran ganda dengan peptidoglikan yang tipis terletak antara membran luar dan membran dalam. Pada bagian membran luar mengandung lipopolisakarida, sehingga bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang lebih kuat dibandingkan bakteri Gram positif (Raningsih *et al.*, 2021). Berdasarkan hal

tersebut diharapkan bakteriosin dapat menghambat bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Penambahan bakteriosin sebagai biopreservatif dapat menjadi alternatif untuk permasalahan keamanan bahan pangan. Bakteriosin diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk makanan dan patogen pada pengolahan produk pangan setelah pemanasan maupun produk dengan pH rendah. Sehingga, Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 dengan variasi pH dan suhu serta uji sensitivitas terhadap enzim proteolitik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut:

1. Bagaimana produksi bakteriosin sebagai antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 ?
2. Apakah bakteriosin sebagai antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 stabil terhadap pengaruh variasi suhu pemanasan dan pH?
3. Apakah protein bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 sensitif terhadap enzim proteolitik?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui produksi bakteriosin sebagai antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026

2. Mengetahui stabilitas bakteriosin sebagai antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 terhadap pengaruh variasi suhu pemanasan dan pH
3. Mengetahui sensitivitas protein bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 terhadap enzim proteolitik

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bakteriosin sebagai antibakteri dapat diproduksi dari *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 dengan beberapa tahapan
2. Bakteriosin sebagai antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 dapat tetap stabil dengan pengaruh variasi suhu pemanasan dan pH
3. Protein bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 sensitif terhadap enzim proteolitik

1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut.

1. Sebagai sumber informasi bagi masyarakat mengenai pemanfaatan senyawa dari bakteri asam laktat sebagai biopreservasi bahan pangan.
2. Menjadi informasi dan pengetahuan dalam bidang industri mengenai sifat bakteriosin yang dapat dimanfaatkan sebagai biopreservasi sehingga dapat mengurangi penggunaan bahan kimia sintetis

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut:

1. Isolat *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 yang digunakan merupakan hasil isolasi dari asinan kubis koleksi dari Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
2. Media yang digunakan untuk produksi bakteriosin adalah *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB)
3. Media yang digunakan dalam uji antagonistik dengan bakteri uji adalah adalah *Nutrient Agar(*NA)
4. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus.*
5. Variasi suhu pemanasan yang digunakan adalah suhu ruang, 65^0C, 80°C dan 100°C
6. Variasi pH yang digunakan adalah pH 2,4,6,8
7. Enzim proteolitik yang digunakan adalah enzim Trpsin dan Pepsin

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat atau yang biasa disebut BAL termasuk ke dalam bakteri Gram positif, tidak mampu membentuk spora, apabila diuji katalase menunjukkan hasil negatif, memiliki ketahanan pada kondisi lingkungan yang asam, dan merupakan golongan bakteri anaerob fakultatif. Kebanyakan dari bakteri asam laktat, umumnya tergolong ke dalam bakteri non patogen, namun beberapa spesies tertentu bersifat patogen. BAL yang non patogen akan berstatus atau disebut sebagai bakteri *generally recognuzed as safe* (GRAS) (Forsythe, 2000 dalam Widodo, dkk., 2019).

Keberadaan bakteri termasuk bakteri asam laktat ini telah disebutkan Allah SWT dalam al-Qur'an surat Yunus ayat 61 sebagai berikut:

وَمَا تَكُوْنُ فِيْ شَأْنٍ وَّمَا تَتْلُوْا مِنْهُ مِنْ قُرْاٰنٍ وَّلَا تَعْمَلُوْنَ مِنْ عَمَلٍ اِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُوْدًا اِذْ تُفِيْضُوْنَ فِيْهِ ۗوَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَّبِّكَ مِنْ مِّثْقَالِ ذَرَّةٍ فِى الْاَرْضِ وَلَا فِى السَّمَآءِ وَلَآ اَصْغَرَ مِنْ ذٰلِكَ وَلَآ اَكْبَرَ اِلَّا فِيْ كِتٰبٍ مُّبِيْنٍ ۝

Artinya : "*Engkau (Nabi Muhammad) tidak berada dalam suatu urusan, tidak membaca suatu ayat al-Qur'an, dan tidak pula mengerjakan suatu pekerjaan, kecuali Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak ada yang luput sedikit pun dari (pengetahuan) Tuhanmu, walaupun seberat zarah, baik di bumi maupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, kecuali semua tercatat dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuz)".*

Dijelaskan dalam Al-Mahalli dan As-Suyuti (2007) dalam *Tafsir Jalalain*, lafadz "*dzarrah*" memiliki arti semut yang paling kecil. Hal ini juga dijelaskan oleh Musthofa (1942) bahwa dalam *Tafsir Al Maraghi* menyebutkan arti dari "*dzarrah*" adalah semut kecil dan segala sesuatu yang serupa, yakni seperti sinar

matahari dan debu. Begitu juga dengan Bahreisy (1988) menjelaskan dalam *Tafsir Ibn Katsir* bahwa Allah SWT selalu mengerti akan segala sesuatu yang berkaitan dengan makhluk-Nya. Apapun itu, yang bahkan seberat *dzarrah* ataupun yang lebih kecil dari itu, tidak akan pernah luput dari jangkauan pengetahuan-Nya. Setelah pemaparan beberapa tafsiran surat Yunus (10):61 di atas, maka dapat dibuat kesimpulan bahwasannya lafadz "*dzarrah*" adalah segala sesuatu yang ukurannya kecil, yang maksudnya adalah mencakup segala sesuatu yang mampu dilihat dengan mata telanjang ataupun dengan alat bantu melihat seperti mikroskop. Tafsir tersebut dalam bidang biologi, berarti adanya makhluk hidup yang ukurannya sangat kecil atau mikroorganisme, seperti bakteri. Salah satu kelompok bakteri adalah bakteri asam laktat.

Disebut bakteri asam laktat (BAL) karena kemampuannya dalam memfermentasi gula menjadi asam laktat (Fardiaz, 1989). Selain itu, BAL mampu melakukan produksi berbagai metabolit antimikroba yakni seperti asam organik, hidrogen peroksida, bakteriosin, dan karbondioksida, yang mana dapat berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen maupun bakteri pembusuk, sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk pangan, dan mampu meningkatkan keamanannya (Jeevaratnam *et al*., 2005). Dalam proses pengawetan produk pangan, beberapa strain BAL berkontribusi melalui bakteriosin yang dihasilkannya. Hal ini dilakukan karena bakteriosin memiliki kemampuan dalam penghambatan pertumbuhan mikroorganisme patogen (Savadogo *et al.*, 2006).

BAL dikategorikan menjadi dua kelompok yakni homofermentatif dan heterofermentatif apabila dilihat berdasarkan produk akhir dari metabolismenya. Dikategorikan homofermentatif karena kemampuannya menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir yang utama dan dikategorikan heterofermentatif karena

menghasilkan asam laktat dan juga etanol, asam asetat, dan CO_2. Contoh BAL kategori homofermentatif yakni genus *Streptococcus, Pediococcus,* beberapa strain genus *Lactococcus* dan *Lactobacillus,* sedangkan kategori heterofermentatif seperti *Weisella, Leunoctoc,* dan beberapa strain genus *Lactobacillus* (Forsythe, 2000 dalam Widodo, *dkk*., 2019).

2.2 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum yang termasuk dalam kategori BAL homofermentatif mampu tumbuh di suhu 30-37°C, pH 5-7, memiliki sel berbentuk batang berukuran pendek, koloninya berwarna putih susu hingga keabuan, dan viabilitasnya tinggi apabila dipakai sebagai starter (Emanuel, *et al*.,2005). Bakteri ini dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang bersifat patogen produk pangan. Kemampuan penghambatannya cukup besar apabila dibandingan dengan BAL lainnya. (Jenie dan Rini,1995 dalam Rosidah, 2018). Klasifikasi dari bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* menurut Bergey's (2005):

Kingdom : Bacteria

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Famili : Lactobacillaceae

Genus : Lactobacillus

Spesies : *L. plantarum*

Bakteriosin yang diproduksi oleh *L. plantarum* memiliki sifat antibakteri (Buckle, 2007). Spesies bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum*1A5 menghasilkan aktivitas penghambatan terbesar terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Escherichia coli* ATCC

25922. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923 rata-rata diameter zona hambatnya 8,99 mm, untuk *Escherichia coli* ATCC 25922 7,87 mm, dan *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 11,76 mm (Permanasari, 2008)

Gambar 2.1. *Lactobacillus plantarum* (Chaudhary *et al.*, 2019)

2.3 Bakteriosin

Hasil produk dari bakteri asam laktat selain asam laktat dan asam asetat, terdapat pula senyawa antimikroba yang bersifat antagonistik terhadap mikroba lain. Spektrum dari senyawa antimikroba ini cukup luas sehingga berpotensi digunakan sebagai pengawet pangan. Jumlah senyawa antimikroba yang diproduksi BAL lebih sedikit apabila dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat, yakni diantaranya seperti asam emak bebas, hidrogen peroksida, amonia, asam format, asetonin, diasetil, etanol, asetaldehid, antibiotik, enzim bakteriolitik, benzoat, bakteriosin, dan 2,3 butadienol. Aktivitas antagonistik senyawa tersebut ditunjukkan pada beberapa mikroba patogen dan mikroba pembusuk bahan pangan (Vuyst dan Vandamme, 1994 dalam Suwayvia, 2017).

Senyawa antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat pertumbuhan mikroba), fungisidal (membunuh kapang), fungistatik (menghambat pertumbuhan kapang) serta germisidal (menghambat

germinasi spora bakteri). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kemampuan dari senyawa atau zat antimikroba, diantaranya yakni sifat yang dimiliki mikroba itu sendiri yang meliputi konsentrasi, umur, jenis, keadaan mikroba tersebut, konsentrasi dari zat pengawet yang ditambahkan, waktu penyimpanan, suhu dari lingkungan, dan juga dari sifat fisika maupun kimia bahan pangan (yang meliputi nilai pH, kadar air, jenis dan jumlah senyawa yang terkandung di dalamnya) (Fardiaz, 1992).

Bakteriosin didifinisikan sebagai peptida-peptida aktif maupun kompleks peptida yang disintesis di ribosom. Bakteriosin memiliki sifat bakterisidal dan bakteriostatik (Jeevaratnam dkk., 2005). Bakteri Gram positif yang menghasilkan beberapa bakteriosin yang spektrum penghambatannya luas, sehingga berpotensi untuk diaplikasikan sebagai agen antibakteri pada pengolahan bahan atau produk pangan (Hata *et al*., 2010).

Sifat dari bakteriosin berikutnya yakni tahan terhadap panas atau disebut juga *heat stable*, sedangkan pada suhu dingin hingga beku, kestabilannya berkurang. Sifat peptida dari bakteriosin adalah peptida yang hidrofobik dan kationik. Muatan positif bakteriosin memiliki nilai yang tinggi apabila berada pada keadaan pH rendah. Peptida bakteriosin termasuk peptida ribosomal, bersifat amfifatik, strukturnya β-sheet atau α-helical ataupun dapat keduanya. Pada peptida bakteriosin terdapat tioeter, kelompok tiol bebas, dan jembatan disulfida. Umumnya jumlah asam amino di dalam bakteriosin kurang dari 60 jenis, namun untuk efisiensi dari sifat bakterisidal yang dimilikinya tidak bergantung pada jumlah asam amino yang ada di dalamnya. Keefektifitasan dari bakteriosin dapat hilang apabila terdapat enzim proteolitik yang menghidrolisis rantai peptidanya (Ray dan Bhunia, 2007).

Pemanfaatan bakeriosin dari bakteri asam laktat telah dilakukan secara luas, khususnya pada bidang pangan, yakni digunakan sebagai biopreservatif (Wiryawan dan Tjakradidjaja, 2001). Pemanfaatan tersebut dilakukan karena bakteriosin sebagai preservatif alami bersifat non-toxic dan mampu mencegah pembusukan pada pangan yang disebabkan oleh bakteri patogen (Hata dkk., 2010). Pada variasi pH dan suhu, bakteriosin memiliki sensitifitasan yang berbeda-beda. Pada beberapa bakteriosin, mampu bertahan atau toleran terhadap nilai pH yang asam dan juga stabil terhadap suhu pemanasan. Karakteristik bakteriosin yang penting apabila diaplikasikan sebagai preservatif pangan adalah kestabilitasannya terhadap suhu tinggi. Hal ini dikarenakan pada proses pengolahan pangan banyak melibatkan proses pemanasan (Tagg, 1976 dalam Suwayvia, 2017).

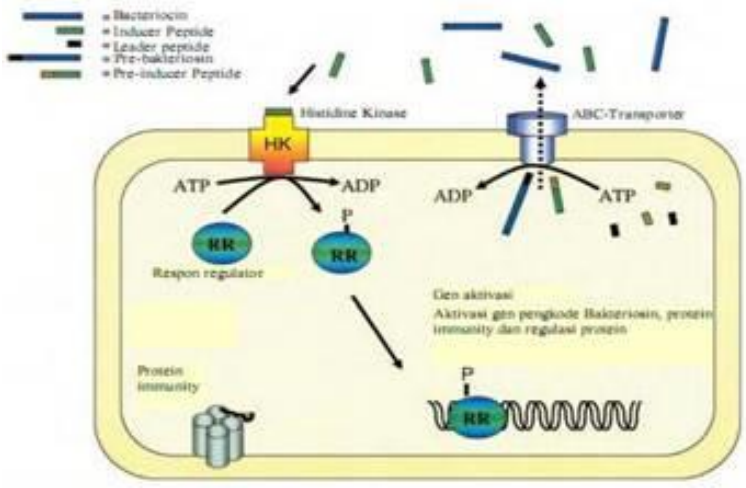
Klaenhammer (1993) dalam Rosidah (2018) menjelaskan terkait pengelompokkan bakteriosin menjadi tiga kelas. Untuk kelas I adalah bakteriosin peptida kecil (yakni kurang dari 5kDa). Golongan ini disebut sebagai golongan lantibiotik, contohya seperti laktisin 481, laktosin S, nisin, serta karmosin U149. Untuk kelas II adalah bakteriosin peptida kecil yang non lantibiotik (berat molekulnya kurang dari 10 kDa), memiliki sifat yang tahan terhadap panas yakni pada suhu 100°C selama 30 menit juga pada suhu 121 °C selama 15 menit. Contoh bakteriosin kelas ini seperti laktokokin A, laktosin 27, diplokokin, laktasin F, sakasin A, laktasin B, karnobakteriosin, leukosin A-UAL 187, plantaricin dan pediosin PA-1. Untuk bakteriosin kelas III adalah bakteriosin peptida besar non lantibiotik (lebih besar dari 30 kDa), bersifat tahan terhadap terhadap panas, dan akan inaktif apabila berada pada suhu 60 sampai dengan 100°C dan selama 10 sampai dengan 15 menit.

2.4 Biosintesis Bakteriosin

Bakteriosin disintesis selama fase eksponensial pertumbuhan sel mengikuti pola klasik sintesis protein. Sistem ini diatur oleh plasmid DNA ekstrakromosomal dan dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama pH. Umumnya bakteriosin disintesis melalui jalur ribosomal, sedangkan kelompok antibiotik disintesis secara ribosomal sebagai prepeptida kemudian mengalami modifikasi. Sekresi prepeptida dilakukan pada fase eksponensial dan diproduksi secara maksimal pada fase stasioner (Hafsan, 2014). Dride (2006) menjelaskan bahwa sistem yang mengatur regulasi produksi bakteriosin terdiri dari 3 gen dan dengan demikian disebut sebagai 3 komponen sistem regulator. Tiga komponen tersebut adalah (i) peptida penginduksi (peptida feromon), (ii) histidine protein kinase transmembran (reseptor feromon), dan (iii) respon regulator sitosolik.

Biosintesis bakteriosin dimulai dengan pembentukan peptida penginduksi (Induction factor/ IF) dan prepeptida bakteriosin. Prepeptida dan IF ini kemudian diurai dan dikeluarkan melalui ABC transporter. Pada batas konsentrasi tertentu dari peptida penginduksi yang telah dikeluarkan, histidin protein kinase (HPK) menjadi aktif dan menyebabkan terjadinya autofosforilasi. Detail molekular mengenai bagaimana peptida penginduksi mengaktifkan HPK belum banyak diketahui. HPK yang telah aktif kemudian berinteraksi dengan protein respon regulator (RR) melalui proses transfosforilasi dimana grup fosfat yang berada pada residu histidin pada HPK yang aktif berpindah ke RR. Reaksi fosforilasi ini mengaktifkan fungsi RR sebagai aktivator transkripsi yang mengikat promotor gen spesifik bakteriosin dan merangsang transkripsi. RR juga mengaktifkan gen yang mengkodekan 3 komponen sistem regulator dan dimulailah

feedback positif (Dride, 2006).



Gambar 2.2 Biosintesis Bakteriosin (Dride, 2006)

2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Proses Produksi Bakteriosin

Proses produksi bakteriosin dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu jenis bakteri produser, media, nutrisi, pH produksi, suhu produksi dan keberadaan enzim proteolitik (Todorov dan Dicks, 2004).

2.5.1 Media

MRSB (de Man Rogosa dan Sharpe Broth) dan TGE (Tryptone Glucose ExtractYeast) merupakan media sintetik yang umumnya digunakan dalam produksi bakteriosin. Namun diantara keduanya yang paling sering digunakan oleh BAL dalam produksi bakteriosun adalah media MRSB (Abubakar, 2015). Hal ini disebabkan karena MRS adalah media yang paling cocok sebagai media untuk pertumbuhan dan produksi bakteriosin (Meng, *et al*., 2012).

2.5.2 pH produksi

Faktor nilai pH juga menjadi faktor penting dalam produksi bakteriosin. Apabila pH meninggat hingga mencapai pH optimum, produksi bakteriosin akan meningkat pula dan setelah itu penurunan akan terjadi (Jaya, 2004). Salah satu BAL yang memiliki nilai pH optimum di angka 5-7 adalah *L. Plantarum* (Emanuel *et al.*,

2005).

2.5.3 Suhu

Faktor suhu dalam proses produksi bakteriosin memberikan dua pengaruh yakni suhu mampu meningkatkan produksi bakteriosin, namun juga mampu menyebabkan kematian bakteri asam laktat yang memproduksi bakteriosin. Yang menjadi batas antara dua pengaruh tersebut adalah suhu optimum (Caldera dan Olivera 2004). Ketika suhu meningkat namun belum mencapai suhu optimumnya, maka pertumbuhan bakteri dan produksi bakteriosinnya juga meningkat (Jaya, 2004). Hal ini ditambahkan oleh Emanuel, dkk., (2005) bahwa salah satu BAL kategori homofermentatif yang memiliki suhu optimum di angka 30-37 °C adalah *L. Plantarum* (Emanuel, dkk., 2005).

2.5.4 Nutrisi

Media kultur bakteri memiliki beberapa nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat diantaranya adalah gliserol dan glukosa yang menjadi sumber energi (sumber karbon), vitamin dan nitrogen didapat dari kandungan *yeast extract* dan *beef extract*, ada pula sumber asam amino yakni N, S, dan P dari pepton (atau tripton), juga terdapat berbagai mineral yang dibutuhkan BAL seperti $CaCO_3$, $MnSO_4$, K_2HPO_4, KH_2PO_4, $PeSO_4$, $MgSO_4$ yang memiliki fungsi untuk menstabilkan pH (Kamoun, 2009). Ditambahkan oleh Wala'a, (2011) bahwa dalam *yeast extract* terkandung bermacam-macam asam amino yang digunakan untuk sumber nitrogen dalam proses produksi bakteriosin.

2.5.5 Enzim Proteolitik

Enzim yang memiliki kemampuan untuk memecah rantai polipeptida protein menjadi rantai atau unit yang lebih kecil disebut sebagai enzim proteolitik atau

protease. Umumnya, enzim ini memiliki fungsi sebagai katalisator dalam proses biokimia dengan menurunkan energi aktivasi sel dan memiliki sifat yang khas atau unik (Murray, 2006 dalam Rosidah, 2018). Bakteriosin yang diproduksi *L. plantarum* dan *L. Brevis* mampu dihentikan aktivitasnya karena kehadiran enzim proteolitik (Ogunbanwo, 2003).

2.6 Mekanisme Penghambatan Senyawa Antimikroba

Senyawa antimikroba dalam melakukan penghambatan pertumbuhan bakteri memiliki beberapa mekanisme yang berbeda. hal ini dipengaruhi oleh komposisi sel dan strukrur dari sel mikroorganisme target itu sendiri. Mekanisme tersbut dapat berupa kerusakan pada dinding sel, adanya perubahan permeabilitasan sel, kerja enzim yang dihambat, adanya perubahan pada molekul protein dan asam nukleatnya, serta pada sintesis protein dan asam nukleat yang dihambat (Damanik, 2018).

Penghambatan bakteri oleh bakteriosin pada bakteri Gram positif dan Gram negatif memberikan dampak yang berbeda. Jenis bakteri Gram positif lebih sensitif apabila dibandingkan dengan bakteri Gram negarif. Bakteri Gram negatif senderung lebih resisten terhadap bakteriosin. Penyebab dari hal tersebut yakni penyusun dari permukaan membran sitoplasma bakteri Gram negatif adalah lipopolisakarida (LPS). Fungsi dari struktur ini adalah mencegah kontak antara molekul pada bakteriosin dengan fosfolipid anionik pada membran sitoplasma bagian dalam. Struktur LPS ini juga sebabkan bakteri Gram negatif lebih tahan terhadap garam empedu. Namun bakteri Gram negatif juga dapat berubah menjadi sensitif terhadap bakteriosin ketika adanya perlakuan kimia dan atau fisik, misalnya memberikan tekanan yang tinggi terhadap sel (Ray dan Bhunia, 2007).

Mekanisme penghambatan dengan sifat bakterisidal (bakteri mati dan lisis) terhadap bakteri yang sensitif bermula pada destabilisasi dari fungsi membran sitoplasma. Hal ini terjadi karena terjadi permeabilitasan membran meningkat dan menyebabkan ketidakseimbangan barrier sehingga dapat menyebabkan sel bakteri mati. Mekanisme penghambatan dimulai ketika molekul bakteriosin menempel pada bagian permukaan dari membran sel dan membentuk sebuah pori sehingga membran menjadi tidak selektif. Ketidakselektifan tersebut menyebabkan ion dan molekul akan melewati membran secara bebas dan mengganggu metabolisme dari sel bakteri yakni misalnya penghambatan sintesis ATP dan sistem transport sel terganggu. Setelah itu, akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Jack dkk., 1995 dalam Ayuningtyas, 2015).

Reseptor bakteriosin di sel sensitif adalah polimer anionik yaitu asam teikoat yang hanya dihasilkan oleh bakteri Gram positif. Molekul-molekul kationik dari bakteriosin akan berinteraksi dengan polimer-polimer anionik dipermukaan membran sel. Sifat hidrofobik dari bakteriosin juga berpengaruh saat aktivitas penghambatan bakteri sensitif. Hal ini dikarenakan inaktivasi mikroorganisme oleh bakteriosin tergantung pada interaksi hidrofobik antara sel-sel bakteri dengan molekul bakteriosin (Ray dan Miller, 2003). Membran terluar bakteri Gram negatif bersifat hidrofilik, akibatnya bakteriosin asal bakteri asam laktat tidak efisien dalam menghambat bakteri Gram negatif (Ray dan Bhunia, 2007).

Pada bakteri yang sensitif terhadap bakteriosin reseptornya berupa polimer anionik yakni asam teikoat yang banyak ditemukan pada dinding sel bakteri Gram positif. Bagian molekul kationik bakteriosin mampu berinteraksi dengan polimer anionik permukaan membran sel bakteri. Bakteriosin yang memiliki sifat

hidrofobik akan mempengaruhi mekanisme penghambatan, ketika ada interakasi hidrofobik antara bakteriosin dengan sel bakteri, sehingga mampu menyebabkan inaktivasi bakteri tersebut (Ray dan Miller, 2003). Membran sel terluar bakteri Gram negatif lebih hidrofilik, hal inilah yang menyebabkan penghambatan bakteriosin pada bakteri Gram negatif kurang efisien ketika diujikan (Ray dan Bhunia, 2007).

2.7 Produksi Bakteriosin

Proses produksi bakteriosin diawali dengan menginokulasikan isolat bakteri asam laktat hasil peremajaan dalam media MRS broth yang ditambahkan *inducer* berupa *yeast extract* 3%. MRSB memiliki kandungan nutrisi yang lengkap untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Kusmiati (2002) melaporkan bahwa media MRS merupakan media terbaik untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides. Yeast extract* merupakan *inducer* hasil ekstrak khamir yang banyak mengandung nitrogen. Ooi (2015) melaporkan bahwa *yeast extract* merupakan sumber nitrogen terbaik untuk produksi bakteriosin asal *L. plantarum* I-UL4 dan aktivitas bakteriosin tertinggi diperoleh dengan penambahan *yeast extract* sebesar 3% dalam media MRS. Lama proses inkubasi menyesuaikan kurva pertumbuhan BAL tdengan suhu 37°C. Rawal (2013) melaporkan bahwa suhu 37°C merupakan temperatur yang optimum untuk produksi bakteriosin oleh spesies *Lactobacillus*. Pada suhu 37°C aktivitas bakteriosin lebih besar dibandingkan pada suhu 30°C maupun suhu ruang. *L. plantarum* merupakan BAL homofermentatif dengan pertumbuhan optimal pada suhu 37°C (Emanuel, *et al* 2005).

Filtrat hasil fermentasi dipisahkan dari endapan selnya dengan disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 15 menit dengan suhu 4˚C. Sentrifugasi dilakukan

pada suhu dingin untuk mencegah terjadinya denaturasi protein akibat suhu yang terlalu tinggi. Selanjutnya filtrat disaring dan dinetralkan pH nya dengan NaOH 1N. Tujuan dari penambahan buffer NaOH 1N yaitu untuk mengurangi pengaruh asam organik dalam supernatan antimikroba sehingga diharapkan dapat mengoptimalkan aktivitas bakteriosin yang terbentuk (Prissilia, 2019). Tahap selanjutnya yaitu purifikasi dan dialisis bakteriosin.

2.8 Purifikasi dan Dialisis Bakteriosin

Metode yang dapat digunakan dalam purifikasi bakteriosin adalah metode purifikasi protein. Purifikasi protein umumnya menggunakan prosedur isolasi yaitu memisahkan protein yang dibutuhkan dari makromolekul lain yang tidak diinginkan. Metode pemisahan protein yang banyak digunakan adalah pengendapan menggunakan ammonium sulfat (Arief, 2005). Proses pengendapan protein dengan garam ammonium sulfat lebih sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan garam-garam yang lain yaitu mempunyai kelarutan yang tinggi, tidak mempengaruhi aktivitas enzim, mempunyai pengendapan yang efektif, mempunyai efek penstabil terhadap kebanyakan enzim, dapat digunakan pada berbagai pH dan harganya terjangkau (Siswara, 2019).

Proses pengendapan protein dengan garam ammonium sulfat dapat dikelompokan menjadi dua bagian yaitu *salting in* dan *salting out*. Englard dan Seifter (1990) dalam Ayuningtyas (2012) menyatakan pada konsentrasi garam ammonium sulfat yang tinggi, garam dapat lebih mengikat molekul air. Menurunya jumlah air yang terikat pada protein menyebabkan gaya tarik-menarik antara molekul protein lebih kuat dibandingkan dengan gaya tarik menarik antara molekul protein dengan air (mempertinggi interaksi hidrofobik), sehingga protein akan

mengendap dari larutan atau berikatan dengan kolom hidrofobik. Peristiwa pemisahan protein ini disebut *salting out*. Proses pengendapan harus dilakukan dalam kondisi dingin sehingga protein akan mengendap tanpa mengalami denaturasi. Endapan yang diperoleh kemudian dimurnikan kembali dengan dialysis (Selvia *et al.*, 2013).

Proses dialisis dilakukan untuk menghilangkan molekul garam amonium sulfat sisa pengendapan serta molekul pengganggu lainnya. Dialisis dilakukan dengan melarutkan endapan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi dengan buffer fosfat 0,2 M pH 7. Penambahan buffer ini bertujuan untuk melarutkan dan menjaga kestabilan protein bakteriosin. Campuran larutan ini kemudian dimasukkan kedalam membran dialysis (kantung selofan). Prinsip dialisis adalah difusi, yaitu terjadinya perpindahan zat terlarut dari larutan berkonsentrasi tinggi ke larutan berkonsentrasi yang rendah. Konsentrasi buffer di luar membran selofan lebih rendah daripada konsentrasi bufer di dalam membran selofan sehingga amonium sulfat dapat berdifusi ke luar membran selofan. Pada tahap dialisis juga terjadi proses pemisahan molekul berdasarkan ukuran melalui pori membran selofan (5 kda). Hal ini menyebabkan molekul-molekul yang berukuran kecil akan keluar melewati pori-pori membran, sedangkan molekul-molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan di dalam membran. Amonium sulfat akan keluar melewati membran dialisis, sedangkan bakteriosin (<10kda) tetap berada pada kantong selofan (Romualdo *et al*., 2010).

2.9 Karakterisasi Bakteriosin

Tiga aspek penting dalam penelitian mengenai bakteriosin adalah mengenai produksi, karakterisasi dan juga purifikasi (Ogunbawo, 2003). Karakterisasi merupakan tahap yang dilakukan untuk menentukan sifat dari bakteriosin. Karakterisasi terhadap bakteriosin perlu diteliti untuk mengetahui kestabilannya dalam berbagai kondisi. Karakterisasi tersebut terdiri dari beberapa perlakuan, diantaranya yaitu perlakuan pemanasan dan ketahanan terhadap pH yang bervariasi.

Stabilitas bakteriosin terhadap pemanasan mengindikasikan bahwa bakteriosin tersebut dapat digunakan sebagai preservasi bahan pangan yang dikombinasikan dengan pengolahan menggunakan suhu tinggi untuk produk makanan. Suhu yang digunakan dalam pengolahan makanan ada tiga macam, yakni suhu pasteurisasi dimana digunakan suhu sedang atau moderat berkisar 58-80ºC untuk memusnahkan mikroorganisme patogen dan juga pembusuk, suhu perebusan berkisar 100ºC, dan suhu sterilisasi yaitu pemanasan dengan suhu tinggi diatas 100ºC untuk membunuh semua mikroorganisme pembusuk (Sobari *et al.,* 2019)

Dundar (2006) menyatakan bahwa resistensi terhadap panas merupakan karakteristik umum untuk berbagai jenis bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat. Bakteriosin-bakteriosin memiliki kekebalan terhadap pemanasan pada kisaran yang berbeda, mulai dari 60°C hingga 100°C selama lebih dari 30 menit (seperti lactocin 27, lactocin S, carnobaceteriocin A) hingga tahan terhadap pemanasan autoklaf 121°C selama 15 menit (lactacin B, lactacin F,nisin).

Masih adanya aktivitas antibakteri oleh bakteriosin ketika diberi perlakuan pemanasan diduga karena bakteriosin merupakan peptida pendek yang stabil terhadap panas. Selain itu, karena adanya asam-asam amino tertentu pada

bakteriosin tersebut yang mampu mempertahankan struktur bakteriosin dari pengaruh panas (Kusmarwati, 2014). Najim (2012) menyebutkan bahwa stabilitas terhadap panas dapat dihubungkan dengan formasi struktur globular yang kecil dan menyebabkan kuatnya daerah hidrofobik, kestabilan ikatan silang dan kandungan sistein yang tinggi.

Selain pemanasan, faktor pH juga menentukan keamanan bahan pangan (Usmiati, 2007). Faktor pH seringkali menjadi pertimbangan bagi bahan pengawet yang akan digunakan pada bahan pangan, khususnya bagi pangan hasil peternakan dengan kondisi pH rendah seperti daging sapi, ham, bakso, susu, butter, keju dan lain-lain. Sedangkan, beberapa bakteri patogen dan pembusuk makanan seperti *E.coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup pada kondisi pH yang rendah (asam). Beberapa bakteriosin diketahui dapat stabil pada kisaran pH yang luas. Hal ini berhubungan dengan daya larut (solubilitas) bakteriosin asal bakteri asam laktat; titik isoelektrik bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat adalah sekitar 8,0-9,0. Kelarutan bakteriosin semakin menurun seiring dengan meningkatnya nilai pH (De Vuyst dan Vandamme 1994 dalam Suwayvia, 2017).

2.10 Bakteri Patogen

Pada bahan bangan, kehadiran bakteri dapat merugikan karena bakteri yang tumbuh di dalamnya terbagi menjadi dua kelompok yakni bakteri patogen dan bakteri pembusuk bahan pangan. Bakteri pembusuk akan menyebabkan kebusukan sedangkan bakteri patogen akan menimbulkan penyakit. Apabila dibandingkan, maka jumlah bakteri patogen lebih sedikit daripada bakteri pembusuk (Fardiaz, 1992). Penyakit asal bahan pangan berhubungan dengan sejumlah kecil bakteri patogen tertentu. Bahan pangan yang ditumbuhi bakteri patogen akan menjadi

substrat untuk menunjang pertumbuhannya. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen dalam makanan terjadi melalui dua cara yakni infeksi dan intoksikasi. Infeksi yakni ketika bakteri patogen mampu tumbuh dan berkembang biak dalam sistem pencernaan manusia sedangkan intoksinasi yakni ketika bakteri mampu memproduksi racun pada bahan pangan yang terkonsumsi manusia (Buckle dkk.,1987).

Famili Enterobacteriaceae adalah contoh bakteri patogen yang sering ditemukan. Anggota dari famili ini seperti *Escherichia* dan *Salmonella*. Selain itu, terdapat contoh bakteri patogen lain seperti *Pseudomonas, Staphylococcus aureus,* dan *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri pembusuk makanan. Apabila dikategorikan berdasarkan hasil pewarnaan, terdapat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram merupakan pembagian bakteri berdasarkan susunan dinding selnya (Fardiaz, 1989).

Pada dinding sel bakteri Gram positif terdapat 90% lapisan peptidoglikan dan juga lainnya berupa asam teikoat yang merupakan reseptor bakteriosin. Untuk struktur bakteri Gram negatif 5-20% berupa lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya berupa lipopolisakarida, lipoprotein, dan protein (Fardiaz, 1989). Apabila dilakukan pewarnaan Gram, maka bakteri Gram positif akan menghasilkan warna biru keunguan danbakteri Gram negatif akan berwarna merah (Tortora dkk., 2006). Contoh bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* dan bakteri Gram negatif seperti *Salmonella, Escherichia coli.*

2.10.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan anggota dari *family* Micrococcaceae, memiliki ciri-ciri yakni bentuknya bulat dan berbentuk tunggal maupun berpasangan, tetrad

dan bentuknya seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* mampu memproduksi pigmen kuning hingga oranye, bersifar aerobik fakultatif, dan memerlukan nitrogen organik atau asam amino untuk nutrisi pertumbuhannya (Fardiaz, 1989). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang mampu memproduksi toksin yang disebut hemolisin. Bakteri ini berbentuk kokus dan berdiameter 0,7 - 0,9 μm. *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol dan toleran terhadap lingkungan dengan kadar garam tinggi yakni 7,5% NaCl (Fardiaz, 1989).

Staphylococcus aureus adalah bakteri patogen utama pada manusia yang menyebabkan berbagai penyakit secara luas yang berhubungan dengan *toxic schock syndrome* sebagai akibat dari keracunan pangan (Ayuningtyas, 2012). Supardi dan Sukamto (1999) dalam Rosidah (2018)menambahkan bahwa *S. aureus* dapat tumbuh optimum pada rentang suhu 35-37 °C dengan suhu minimum 6,7 °C dan suhu maksimum 45,5°C. Bakteri dapat tumbuh pada pH 4,0-9,8 dengan pH optimum sekitar 7,0-7,8

Gambar 2.3. *Staphylococcus aureus (*Alwan and Mahmood, 2015*)*

2.10.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam kategori bakteri Gram negatif, bentuknya batang dan pendek, dan bersifar anaerobik fakultatif, dan nilai pH optimumnya

berada di angka 7,0-7,5. Bakteri ini termasuk bakteri koliform fekal. Hal ini disebabkan ditemukannya bakteri ini pada saluran usus hewan dan manusia sehingga sering ditemukan terdapat pada feses hewan dan manusia. Adanya bakteri ini menjadi salah satu tanda adanya kontaminasi kotoran (Frazier dan Westhoff, 1998 dalam Rosidah, 2018). *Escherichia coli* bersifat fakultatif anaerob dan tumbuh pada rentan suhu 10-40°C dan optimum pada suhu 37^{0}C. *Escherichia coli* mempu tumbuh pada beberapa media seperti media *Nutrient Agar, MacConkey* agar, *blood* agar, dan *Mueller- Hinton* agar (Parija, 2012 dalam Alawiyah, 2019).

Dinding sel bakteri *E. coli* terdiri dari tiga lapis (*multilayer*) dengan komponen lipidnya lebih tinggi apabila dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Komponen lipid pada dinding selnya mencapai 11-22% namun komponen peptidoglikannya tipis, hanya terletak diantara membran luar dengan membran sitoplasmik (Pelczar, 1986). Pertumbuahn *Escherichia coli* mampu dihambat oleh bakteriosin. Abu bakar *et al*., (2015) pada penelitiannya menjelaskan bahwa ekstrak kasar bakteriosin memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *E. coli* dengan zona meter penghambatannya sebesar 707,66 hingga 853,01 AU/Ml

Gambar 2.4 *Escherichia coli* (Chauhan *et al.*, 2017)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis penelitian

Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri 3 faktor perlakuan 6 ulangan. Faktor pertama yaitu variasi suhu pemanasan yang terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu (suhu ruang (25°C), 65°C, 80°C dan 100°C), faktor kedua adalah pH yang terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu (2, 4, 6, 8), dan faktor ketiga adalah enzim proteolitik yang terdiri dari 2 taraf perlakuan yaitu (pepsin dan tripsin).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Juni 2022 di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut.

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi perlakuan pH (2, 4, 6 dan 8), variasi perlakuan suhu pemanasan (suhu ruang(25°C), 65°C, 80°C dan 100°C) dan variasi enzim proteolitik (pepsin dan tripsin).

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pengukuran diameter zona hambat yang dihasilkan oleh *L. plantarum* FNCC 0026 dan presentase penurunan protein terdegradasi pada bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini terdiri dari jenis spesies bakteri asam

laktat yang digunakan, bakteri patogen, dan media yang digunakan.

3.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain tabung reaksi, labu erlenmeyer, gelas ukur, ose, pipet tetes, cawan petri, , mikro pipet, sentrifuse, *incubator, shaker incubator*, kertas saring Whatman no. 1, *magnetic stirrer*, spektrofotometer UV-Vis, kantong selofan dialisis, *hot plate*, alumunium foil, kapas, *water bath*, autoklaf, timbangan analitik, *laminar air flow*, pH meter, bunsen, jangka sorong, *vortex*, alat tulis.

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah isolat *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*., *Nutrient agar* (NA), *De Man Rogosa and Sharpe Agar (*MRSA), *De Man Rogosa and Sharpe broth* (MRSB), NaCl 0.9 %, NaOH 1 N, garam amonium sulfat, *yeast extract*, *buffer potassium phosphate*, $BaCl_2$0,1 M, Bovin Serum Albumin (BSA), HCL 1N, Biuret, enzim tripsin dan pepsin, alkohol, akuades, H_2SO_4,

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media

3.5.1.1 Pembuatan Media BAL

Isolat *Lactobacillus plantarum* ditumbuhkan pada media MRSA dan MRSB. Pembuatan media MRSA dilakukan dengan cara ditimbang serbuk MRSA sebanyak 6,72 gr dan dilarutkan dengan 100 mL aquades. Pembuatan media MRSB dilakukan dengan menimbang sebanyak 27,5 gr dan dilarutkan dengan aquades 500 ml. Selanjutnya semua media dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Setelah homogen, media dituang kedalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas yang dibungkus kasa kemudian disterilisasi

pada suhu 121°C selama 15 menit (Mansur *et al*, 2019).

3.5.1.2 Pembuatan Media Bakteri uji

Pembuatan media NA dilakukan dengan cara ditimbang serbuk NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 6 gr, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 300 mL. Setelah itu dipanaskan media diatas *hotplat*e hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya media dituang ke dalam erlenmeyer, ditutup dengan kapas yang dibungkus kasa dan disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121ºC menggunakan autoklaf. Selanjutnya media digunakan untuk stok inokulum (Juariah dan Tiana, 2021).

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Langkah-langkah sterilisasi dengan autoklaf yaitu dicek banyaknya air (*aqua destilata*) pada autoklaf, air harus berada pada batas yang ditentukan. Jika kurang dituangkan aquades secukupnya kedalam autoklaf, kemudian dimasukkan semua alat dan bahan yang akan disterilkan, tutup autoklaf dengan rapat agar uap tidak keluar, autoklaf dihubungkan dengan stop kontak dan pastikan tombol power pada posisi ON, pastikan suhu mencapai 121°C (2 atm) dan pertahankan sampai 15 menit. Ditunggu tekanan dalam kompartemen turun sampai sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada preisure gauge menunjuk ke angka nol). Kemudian dibuka klep pengaman dan keluarkan isi autoclave dan posisikan tombol power ke OFF lalu lepas stop kontak (Suwastika, 2016)

3.5.3 Peremajaan Bakteri

3.5.3.1 Peremajaan *Lactobacillus plantarum*

Isolat *Lactobacillus plantarum* diinokulasikan sebanyak satu ose kedalam media MRSA kemudian diinkubasi pada suhu 37^0C selama 48 jam sehingga didapatkan kultur aktif. Selanjutnya hasil peremajaan *Lactobacillus plantarum* digunakan untuk pembutaan stok inokulum (Usmiati, 2007).

3.5.3.2 Peremajaan bakteri uji

Bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diremajakan dengan cara diinokulasikan sebanyak satu ose pada media NA secara aseptis. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Muhibah, 2013 dalam Rosidah, 2018).

3.5.4 Pembuatan Inokulum

3.5.4.1 Pembuatan Inokulum *Lactobacillus plantarum*

Dua sampai empat ose biakan *L.plantarum* diinokulasikan pada 100 mL media MRS *broth*, diinkubasi pada *shaker incubator* dengan temperatur 37°C selama 24 jam (Khairiyah, 2014 dalam Rosidah, 2018).

3.5.4.2 Pembuatan Inokulum Bakteri Uji

Koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* hasil peremajaan diambil satu ose dan disuspensikan dalam 10 mL NaCl 0,9% kedalam tabung reaksi. Kemudian kulltur di vortex dan dibandingkan kekeruhannya mengunakan larutan McFarland 0,5 (konsentrasi bakteri 1,5 x 10^8 CFU/mL) (Barzavar, 2015).

3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Pembuatan kurva pertumbuhan *L. plantarum* dilakukan untuk mengetahui waktu yang optimal isolat tersebut untuk menghasilkan bakteriosin. Pembuatan

kurva dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat *L. plantarum* sebanyak satu ml pada media MRS *broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan setiap 2 jam sekali selama 32 jam diukur *optical density* (OD)nya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Jati, 2012).

3.5.6 Produksi Bakteriosin

Inokulum *Lactobacillus plantarum* diinokulasikan sebanyak 10 ml kedalam media MRSB 100 ml yang telah ditambah *yeast extract* 3% (b/v), setelah itu diinkubasi di *shaker incubator* pada suhu 37°C dan kecepatan 120 rpm selama 24 jam (sesuai kurva pertumbuhan), kemudian disentrifugasi filtrat hasil fermentasi dengan kecepatan 4500 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit untuk mendapatkan supernatan bebas sel. Terdapat cairan dua fase hasil sentrifugasi yaitu supernatan dan endapan. Supernatan kemudian dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1 kemudian dinetralkan filtrat bebas sel dengan NaOH 1N sampai pH 7 (Sari *et al,* 2018). Selanjutnya supernatan netral dimurnikan dengan amonium sulfat dan dialisis.

3.5.7 Purifikasi Parsial dengan Presipitasi Amonium Sulfat

Supernatan bebas sel netral dipurifikasi dengan menggunakan ammonium sulfat. Serbuk amonium sulfat ditambahkan secara bertahap dengan konsentrasi 80% sebanyak 51,6 gram ke dalam supernatan bebas sel netral untuk mendapatkan endapan protein bakteriosin, kemudian dihomogenkan secara perlahan pada suhu 4°C selama 2 jam. Setelah itu supernatan dipindahkan ke tabung sentrifus, kemudian dilakukan sentrifugasi 4500 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Selanjutnya, supernatan dibuang dan didapatkan presipitat bakteriosin. Kemudian prespitat bakteriosin dilarutkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 7 (perbandingan 1:1)

dengan volume kurang lebih 2 mL, selanjutnya bakteriosin kasar dikoleksi pada labu erlenmeyer steril (Kusharyati *et al,* 2020).

3.5.8 Dialisis

Presipitat bakteriosin didialisis untuk menghilangkan ammonium sulfat yang masih bercampur. Dialisis dilakukan dengan menggunakan kantong selofan dan buffer yang digunakan adalah buffer fosfat.. Bakteriosin kasar yang telah dilarutkan dalam buffer fosfat 0,2 M sebanyak 5 mL dimasukkan kedalam kantong selofan yang diikat kedua ujungnya dengan benang. Kemudian kantong selofan tersebut direndam dalam 100 mL larutan buffer fosfat 0,05 M pH 7. Proses tersebut dilakukan pada suhu dingin dan menggunakan stirer dengan kecepatan 100 rpm, selanjutnya dilakukan penggantian buffer sebanyak 4 kali yaitu jam ke 2, jam ke 4 dan jam ke 6, hingga jam ke 8. Dialisis dihentikan apabila sudah tidak terbentuk endapan putih, caranya yaitu dengan mengambil 2 mL buffer diluar membran dan ditetesi HCl 0,1 M dan beberapa tetes $BaCl_2$.(Mayasari, 2016).

3.5.9 Karakterisasi Bakteriosin

3.5.9.1 Pengaruh Suhu Pemanasan terhadap stabilitas Bakteriosin

Diambil sebanyak 2 ml bakteriosin dimasukkan kedalam *eppendorf* ukuran 2 ml kemudian masing-masing dipanaskan pada suhu 65°C, 80◦C dan 100◦C selama 30 menit di *waterbath thermostatic* dan suhu ruang (25◦C) sebagai kontrol. Selanjutnya dilakukan uji antagonistik pada bakteriosin yang telah diberi perlakuan suhu pemanasan (Ningsih *et al,* 2018).

3.5.9.2 Pengaruh pH terhadap stabilitas Bakteriosin

Diambil masing-masing sebanyak 5 ml bakteriosin dan diuji stabilitasnya terhadap beberapa nilai pH dari pH asam hingga basa (2, 4, 6 dan 8). Pengaturan

pH asam dilakukan dengan menambahakan sedikit demi sedikit HCL 1N pada larutan bakteriosin menggunakan pipet tetes hingga mencapai pH yang ditentukan. Pengaturan pH basa dilakukan dengan menambahakan sedikit demi sedikit NaOH 1N menggunakan pipet tetes hingga mencapai pH yang ditentukan. pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Setelah perlakuan pH, selanjutnya bakteriosin diinkubasi selama 4 jam pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan uji antagonistik pada bakteriosin yang telah diberi perlakuan pH untuk mengetahui kestabilitasnya (Hata *et al*., 2010).

3.5.9.3 Uji Antagonistik Bakteriosin terhadap Bakteri uji

Bakteriosin yang telah diberi perlakuan suhu dan pH selanjutnya di uji antogonistiknya dengan bakteri uji. Uji antibakteri berdasarkan uji Kirby-Bauer dengan menggunkan kertas cakram. Sebanyak 1 mL inokulum bakteri patogen S. *aureus* dan E. *coli* (konsentrasi bakteri 1,5 x 10^8 cfu/mL) dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan media NA steril. Cawan petri diputar sesuai angka delapan agar bakteri menyebar rata pada media. Kertas cakram dibuat dari kertas whatman dengan diameter 6 mm. Kertas cakram steril direndam dalam 50 µl bakteriosin selama 30 menit secara aseptis. Setelah media NA memadat, kertas cakram diambil dengan pinset steril dan diletakkan diatas media NA. kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37ºC (Yulinery, 2015; Sutrisna *et al*., 2012). Luas zona hambat diukur menggunakan jangka sorong(*digital caliper*). Rumus zona hambat adalah sebagai berikut (Simarmata, 2007):

Lz = Lav-Ld

Keterangan:

Lz = Luas zona hambat (mm

Lav = luas keseluruhan zona hambat (mm)

Ld = Luas diameter kertas cakram (mm)

Hasil pengukuran zona hambat selanjutnya dibandingkan dengan kriteria kekuatan daya hambat bakteri. Kriteria daya hambat bakteri digolongkan mejadi empat kategori berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu sangat kuat (≥ 21 mm), kuat (11-20 mm), sedang (6-10 mm) dan lemah (≤ 5 mm) (Surjowardojo *et al*., 2015).

3.5.9.4 Pengaruh Enzim Proteolitik Terhadap Sensitivitas Bakteriosin

Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 diuji sensitivitasnya terhadap enzim proteolitik (pepsin dan tripsin) dengan konsentrasi 1 mg/ml, yaitu 1 mg enzim ditambahkan larutan buffer pH 7 sebanyak 1 ml, kemudian. Ekstrak bakteriosin sebanyak 1 ml dicampur dengan 1 mg/ml masing-masing enzim proteolitik (1 : 1). Perlakuan enzim pepsin diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam , sedangkan pada perlakuan enzim tripsin diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam. Keberadaan protein bakteriosin murni setelah mendapat perlakuan enzim proteolitik diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550nm (Nurliana *et al*, 2002). Setelah itu dihitung presentase penurunan konsentrasi protein bakteriosin sebelum dan sesudah penambahan enzim.

3.5.10 Pengukuran Konsentrasi Protein (Martono,2016)

3.5.10.1 Pembuatan Kurva Standar Bovine Serum Albumin (BSA)

Larutan standar BSA dibuat dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1mg/ml dalam 10 mL aquades. Kemudian dipipet setiap konsentrasi sebanyak 1 mL dan ditambahkan sebanyak 4 mL reagen biuret. Selanjutnya dihomogenkan dengan vortex dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. kemudian masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 550 nm.

Setelah itu data absorbansi diolah menggunakan Excel untuk membuat grafik kurva standar. Selanjutnya dilakukan pengukuran protein bakteriosin.

3.5.10.1 Pengukuran Konsentrasi Protein Sampel

Sebanyak 1 ml bakteriosin diambil dan dimasukkan secara aseptis dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 10 ml dan dihomogenkan dengan vortex. Dengan demikian maka sampel mengalami pengenceran10x. Selanjutnya diambil 1 ml dan ditambahkan 4 mL reagen biuret, dihomogenkan dengan vortex dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Kompleks berwarna yang terbentuk diukur absorbansinya pada λ 550 nm. Nilai absorbansi sampel yang diperoleh dimasukan pada persamaan kurva standart sebagai nilai y sehingga diperoleh nilai x. Nilai x yang diperoleh merupakan konsentrasi sampel yang dianalisis (Lampiran L.2.4).

3.6 Analisis Data

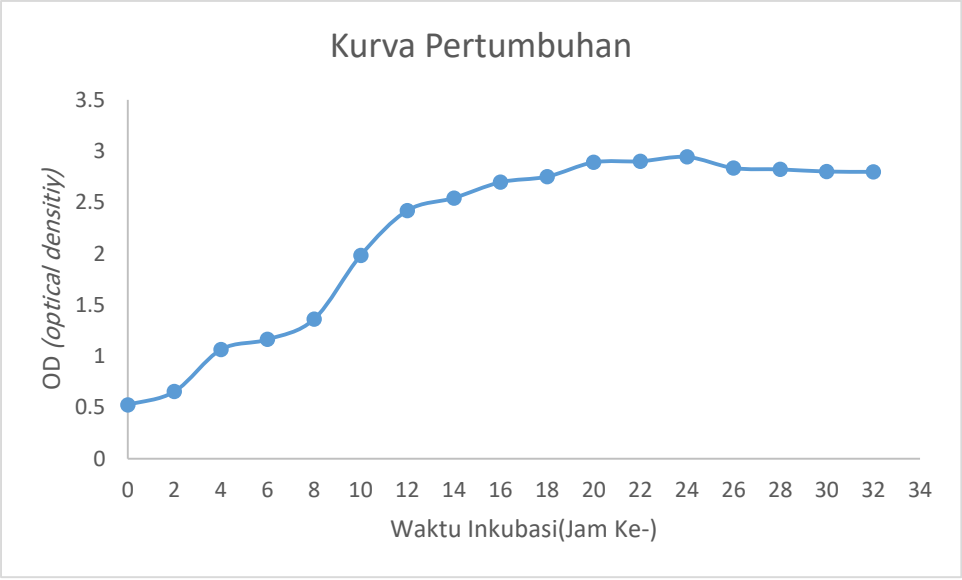
Data diameter zona hambat di analisis secara statistik menggunakan SPSS 25.0 for windows berupa uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov, dilanjutkan uji One Way ANOVA, dan uji Duncan untuk melihat ada tidak perbedaan nyata dari setiap perlakuan. Data penurunan konsentrasi protein dianalisis secara deskriptif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi Bakteriosin

Penelitian ini diawali dengan pembuatan media pertumbuhan, peremajaan isolat, pembuatan inokulum serta pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026. Tujuan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri yaitu untuk mengetahui pola pertumbuhan dari bakteri *L. plantarum* FNCC 0026, sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan waktu fermentasi terbaik selama produksisenyawa antibakteri bakteriosin. Kurva pertumbuhan menunjukkan siklus perkembangbiakan bakteri yang ditandai dengan meningkatnya nilai kekeruhan (densitas) seiring dengan lamanya masa inkubasi.



Gambar 4.1. Kurva Pertumbuhan isolat *L. plantarum* FNCC 0026 selama 32 jam.

Pertumbuhan bakteri ditandai dengan peningkatan nilai OD (*OpticalDensity*) atau kekeruhan. Semakin tinggi nilai OD, maka semakin banyak pula jumlah sel bakteri (Reiny, 2012). Kurva pertumbuhan *L. plantarum* FNCC 0026 dapat dilihat

pada Gambar 4.1. Berdasarkan kurva pertumbuhan yang telah dibuat, menunjukkan bahwa pertumbuhan *L. plantarum* FNCC 0026 selama inkubasi 32 jam terdiri dari tiga fase yaitu fase lag, fase log, dan fase stasioner. Hal tersebut sesuai dengan kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya (Wang, *et al*. 2015).

Kurva pertumbuhan *L. plantarum* FNCC 0026 dimulai dengan fase lag (adaptasi) dari jam ke-0 sampai jam ke-2. Bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru pada fase ini. Fase lag berada pada rentang waktu yang singkat, hal ini dikarenakan media yang digunakan untuk pertumbuhan sama dengan media yang digunakan untuk peremajaan. Hal ini sesuai dengan Saraswati *et al* (2021) yang menyatakan bahwa lamanya fase lag dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media yang digunakan, jumlah inokulum awal serta lingkungan pertumbuhan. Jika media dan lingkungan pertumbuhan awal sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, akan memungkinkan fase lag berjalan lebih cepat.

Fase selanjutnya yaitu fase logaritmik (fase pertumbuhan) terjadi mulai jam ke-2 sampai jam ke-24. Pada fase ini pertumbuhan sel-sel bakteri terjadi secara signifikan, dimana pada kurva terlihat bahwa nilai OD-nya naik secara signifikan dari 0,65 meningkat hingga 2,94. Menurut Hidayatullah *et al* (2019) bahwa fase log *L. plantarum* terjadi mulai jam ke-3 sampai jam ke-24, sedangkan pada penelitian Suwayvia (2017) yang menyatakan fase log *L. plantarum* yaitu pada jam ke-3 hingga jam ke-12 inkubasi. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan suhu, pH, kondisi media serta asal isolat bakteri, dimana dari penelitian Hidayatullah (2019) dari silase jagung serta peneltian Suwayvia (2017) dari sayuran kubis. Pada fase ini, kebutuhan energi juga meningkat dibandingkan dengan pada fase lag. Mahjani dan Putri (2020) menyatakan bahwa pada fase log digambarkan dengan

sel membelah diri dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, aktivitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang.

Fase pertumbuhan berikutnya yaitu fase stasioner (tetap) yang terjadi pada jam ke 24–32 waktu inkubasi. Pada fase ini tidak terjadi penambahan jumlah bakteri secara signifikan. Menurut Hasanah *et al* (2019) pada fase stasioner jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati karena cadangan makanan sudah mulai menipis dan pada fase ini BAL akan menghasilkan metabolit sekunder sebagai pertahanan diri terhadap lingkungannya dan mikroorganisme lain. Produksi bakteriosin terbaik pada saat mencapai akhir fase logaritmik atau awal fase stasioner (Yelnetty, 2014).

Produksi optimal bakteriosin terjadi pada fase logaritmik akhir dan awal stasioner. Meningkatnya jumlah biomassa menyebabkan jumlah bakteriosin yang dihasilkan akan meningkat kemudian menurun setelah mencapai fase stasioner. Hal ini sebagaimana yang dilaporkan Khoiriyah (2014) bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. mulai terdeteksi pada awal fase eksponensial (logaritmik) dan mencapai optimal pada awal fase stasioner. Hidayatullah (2019) melaporkan hal yang serupa, bahwa senyawa metabolit dari *L. plantarum* dihasilkan secara optimal pada fase logaritmik sampai awal stasioner yakni 15-24 jam masa inkubasi. Fase eksponensial dari *L. plantarum* FNCC 0026 mencapai puncak setelah 24 jam inkubasi. Awal fase stasionernya dimulai dari jam ke-24, sehingga produksi bakteriosin dari *L. plantarum* FNCC 0026 dapat dilakukan dengan lama inkubasi 24jam.

Bakteriosin murni yang dihasilkan pada penelitian ini sebanyak 30 mL dari produksi awal sebanyak 100 mL. Bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 yang dihasilkan pada penelitian ini lebih banyak daripada bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0020 yang dihasilkan pada penelitian Suwayvia (2017), yaitu dari 500 mL produksi awal hanya dihasilkan sebanyak 16 mL bakteriosin murni. Hal ini membuktikan bahwa setiap strain bakteri asam laktat akan menghasilkan bakteriosin dengan jumlah yang berbeda-beda. Selanjutnya, dilakukan uji antagonistik bakteriosin murni terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui sifat antibakterinya.

Hasil uji antagonistik bakteriosin murni asal *L. plantarum* FNCC 0026 terhadap bakteri uji disajikan pada tabel 4.1. Kemampuan penghambatan bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 terhadap bakteri uji ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram.

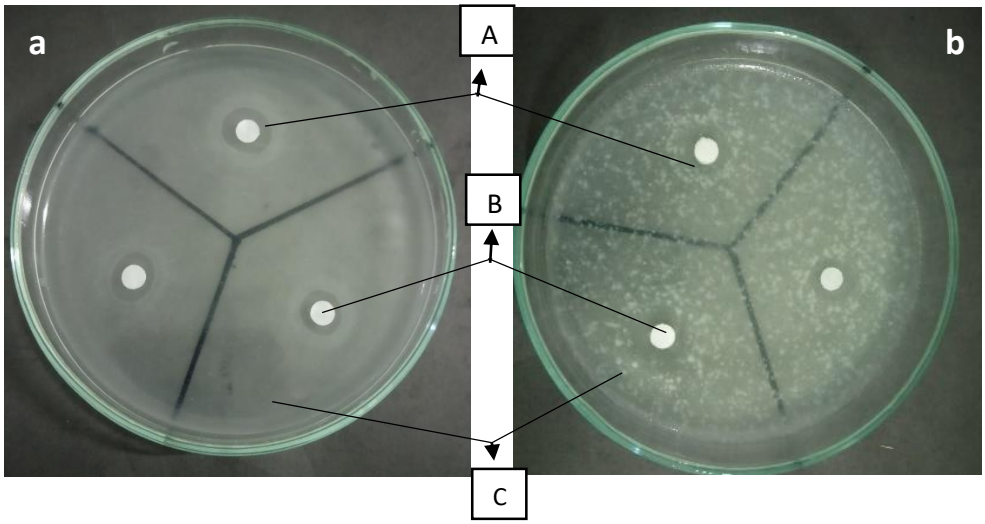
Tabel 4.1. Hasil Uji Antagonistik Bakteriosin Murni terhadap Bakteri Uji

Bakteri indikator	**d zona hambat (mm)**	**Rasio***
Escherichia coli	4,82	Sedang
Staphylococcus aureus	6,83	Kuat

*Keterangan : d = diameter

Berdasarkan data pada Tabel 4.1, diketahui bahwa diameter zona hambat bakteriosin murni terhadap bakteri *E.coli* sebesar 4,82 mm dan terhadap bakteri *S.aureus* sebesar 6,83 mm. Diameter penghambatan bakteriosin terhadap bakteri *S.aureus* lebih besar dibandingkan terhadap *E.coli* (Gambar 4.2). Hal ini dikarenakan struktur penyusun dinding sel bakteri Gram positif dan negatif yang berbeda. Bakteri Gram positif *S. aureus* hanya mempunyai membran plasma tunggal dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Sekitar 90% dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoglikan, sedangkan sisanya berupa molekul lain bernama asam teikoat. Dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan

berlapis serta tidak mengandung asam teikoat sebagai salah satu reseptor bakteriosin sehingga lebih resisten. Selain itu adanya perlindungan membran luar yang membentuk lapisan terluar dari selubung sel yang berfungsi sebagai penghalang (barrier) yang efisien melawan larutan hidrofobik tertentu (Lingga *et al*., 2015).



Gambar 4.2 Aktivitas penghambatan bakteriosin murni terhadap bakteri (a) *Staphylococcus aureus* dan (b) *Escherichia coli,* (A) zona bening, (B) kertas cakram yang telah direndam bakteriosin, (C) bakteri uji

Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, bakteriosin isolat *L. plantarum* FNCC 0026 memiliki spektrum yang luas. Dibuktikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram pada kedua bakteri uji yang terdiri dari bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dan bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Karpinski dan Szkaradkiewicz (2013) bahwa bakteriosin mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif.

4.2 Karakterisasi Bakteriosin terhadap suhu pemanasan dan pH

4.2.1 Stabilitas Bakteriosin terhadap suhu pemanasan

Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas bakteriosin dilakukan untuk

mengetahui stabilitas bakteriosin pada berbagai suhu pemanasan. Stabilitas bakteriosin terhadap suhu penting dilakukan ketika bakteriosin akan digunakan sebagai pengawet makanan karena proses produksi makanan biasanya melibatkan pemanasan. Suhu pemanasan yang digunakan meliputi suhu ruang (25°C), 65° C, 80°C, dan 100°C. Aktivitas penghambatan bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 diamati dari diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa besar zona hambat terhadap bakteri *E. coli* berbeda nyata, yang artinya terdapat pengaruh perlakuan pemanasan terhadap daya hambat bakteriosin. Nilai diameter zona hambat bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0020 terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S.aureus* disajikan pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Pengaruh Variasi Suhu Pemanasan terhadap Diameter Zona Hambat (mm) Bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 pada Bakteri Uji

Perlakuan	Zona Hambat(mm)	
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*
Suhu Ruang (25^{0}C)	6,602b	4,748c
65^{0}C	6,548b	3,568b
80^{0}C	5,567ab	3,068ab
100^{0}C	4,818a	2,560a

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata menurut Uji Duncan α 5%

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa signifikansi < 0,05 yang artinya terdapat pengaruh perbedaan suhu pemanasan terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan bakteriosin. Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa pada pengujian terhadap *Staphylococcus aureus*, diameter zona hambat pada perlakuan suhu ruang (25°C) memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu 65°C dan 80°C, namun berbeda nyata dengan perlakuan suhu 100°C. Diameter zona hambat pada perlakuan suhu 80°C tidak berbeda nyata

dengan zona hambat pada semua perlakuan. Sedangkan diameter zona hambat pada perlakuan suhu 100°C berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu ruang (25°C) dan 65°C, namun tidak berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu 80°C.

Pengujian terhadap *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda nyata pada perlakuan suhu ruang (25°C) dengan diameter zona hambat pada semua perlakuan. Perlakuan suhu 65°C menghasilkan diameter zona hambat yang tidak berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu 80°C, namun berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu ruang (25°C) dan suhu 100 ^{o}C. Diameter zona hambat pada perlakuan suhu 100°C berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu ruang (25°C) dan suhu 65°C, namun tidak berbeda nyata dengan diameter zona hambat pada perlakuan suhu 80°C. Hal ini membuktikan bahwa bakteriosin tetap stabil pada perlakuan suhu ruang (25°C) hingga suhu 80°C, namun kestabilan berkurang pada perlakuan suhu 100°C. Semakin tinggi suhu pemanasan, diameter zona hambat yang dihasilkan semakin berkurang. Hal ini sesuai dengan Mardhika *et al* (2020) bahwa pemanasan yang terlalu tinggi akan mengakibatkan protein mengalami denaturasi dan akan mengalami kerusakan.

Lactobacillus plantarum FNCC 0026 menunjukkan aktivitas antibakteri dengan perlakuan suhu ruang hingga suhu pemanasan 65°C, 80°C, dan 100°C selama 30 menit ditandani dengan masih terbentuknya zona hambat pada uji antibakteri. Stabilitas bakteriosin terhadap panas mungkin disebabkan oleh formasi struktur globular kecil, adanya ikatan silang yang stabil, daerah hidrofobik yang kuat dan adanya asam amino sistein yang mampu mempertahankan struktur

bakteriosin dari pemanasan (Barman *et al*., 2018). Hasil serupa dilaporkan (Ogunbawo, 2003) bahwa bakteriosin yang diproduksi oleh *L. brevis* OG1 dan *L. plantarum* F1 diisolasi dari ogi (makanan fermentasi Nigeria) masih memiliki aktivitas pada suhu pemanasan 100ºC selama 10-30 menit. Hasil penelitian (Sari, 2018) menyatakan bahwa *L. plantarum* asal *ce hun tiau* masih menunjukkan aktivitas antibakteri dengan suhu pemanasan 40-100ºC selama 30 menit, sedangkan penelitian Sunaryanto dan Tarwadi (2015) Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* stabil pada pemanasan sampai dengan 70°C, namun aktivitas bakteriosin hilang sama sekali pada pemanasan suhu 90°C selama 30 menit atau lebih dan pemanasan suhu 100°C. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dari sotong kering stabil terhadap pemanasan pada suhu 40°C selama 30 menit. Namun aktivitas antibakteri bakteriosin tersebut hilang pada suhu pemanasan 60, 80, dan 100°C selama 30 menit ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat saat diuji aktivitasnya pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Andarilla *et al*.,2018). Perbedaan stabilitas bakteriosin ini mengindikasikan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh setiap bakteri-bakteri asam laktat ini memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Hal ini membuktikan bahwa perbedaan strain *L. plantarum* akan mempengaruhi karakteristik bakteriosin yang dihasilkan (Saenz *et al.*, 2009).

Perubahan suhu dan pH dapat mengurangi aktivitas biokimia protein (Poedjiadi, 2006). De Vuyst (1994) dalam Suwayvia (2017) juga menambahkan bahwa sebagian besar bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat merupakan bakteriosin dari kelas I dan II, dideskripsikan sebagai protein yang memiliki ikatan hidrofobik dengan struktur tersier, yang menyebabkan adanya sifat kestabilan terhadap pemanasan. Kestabilan terhadap pemanasan ini merupakan

suatu keuntungan dan merupakan parameter yang sangat penting jika bakteriosin akan diaplikasikan sebagai pengawet makanan sebab prosedur-prosedur pemrosesan makanan banyak melibatkan pemanasan.

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa bakteriosin dari *L. plantarum* FNCC 0026 yang telah diberi perlakuan pemanasan mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 4,818-6,602 mm dengan kategori kuat pada perlakuan suhu ruang (25°C) dan 65°C, kategori sedang pada perlakuan suhu 80°C dan 100^{0}C. Sedangkan diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap *E. coli* sebesar 2,450-4,748 mm dengan kategori sedang pada perlakuan suhu ruang, 65°C, 80°C dan kategori lemah pada suhu 100°C. Kriteria daya hambat bakteri digolongkan mejadi empat kategori berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu sangat kuat (≥ 21 mm), kuat (11-20 mm), sedang (6-10 mm) dan lemah (≤ 5 mm) (Surjowardojo *et al*., 2015). Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas penghambatan bakteriosin efektif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Hal serupa dilaporkan pula oleh Sihombing *et al* (2021) bahwa bakteriosin dari isolat BAL PR.6.10.5 dan PR.6.15.2 dari asinan rebung bambu tabah yang dipanaskan pada suhu 100°C mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 8739 dengan rata-rata diameter 3,67-11,50 mm dan 3,00-9,00 mm terhadap bakteri *E. coli* ATCC 8739. Noordiana (2013) juga menyatakan bahwa bakteriosin hasil isolasi dari sirip salmon yang telah diberi perlakuan pemanasan hingga suhu 80°C mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. typhimurium* dengan nilai diameter zona hambat sebesar 0,20 – 2 mm dan 0,30 – 2,80 mm.

Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, bakteriosin isolat *L. plantarum* FNCC 0026 memiliki spektrum yang luas. Dibuktikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram pada kedua bakteri uji yang terdiri dari bakteri Gram positif yaitu *S. aureus*dan bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 terhadap *S. aureus* lebih besar dari pada terhadap *E. coli*. Hal ini sesuai dengan Suwayvia (2017) yang melakukan uji aktivitas bakteriosin dari *L. plantarum* FNCC 0020 mendapatkan aktivitas hambat lebih besar pada *S. aureus* yaitu 9,57 mm sedangkan *E. coli* 6,32 mm. Rosidah (2018) bakteriosin memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan luas hambatan paling tinggi 3,92mm dan terhadap *S. aureus* paling tinggi 4,03 mm.

Perbedaan zona hambat yang dihasilkan dikarenakan struktur penyusun dinding sel bakteri Gram positif dan negatif berbeda. Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang terletak di luar membran sitoplasmik. Peptidoglikan yaitu gabungan protein dan polisakarida. Peptidoglikan berperan dalam kekerasan dan memberikan bentuk sel. Pada bakteri Gram positif 90% dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan selebihnya adalah asam teikoat yang mengandung alkohol (gliserol atau ribitol), serta lipid dengan kandungan yang terhitung rendah (sekitar 1-4%) (Silhavy *et al*., 2010 dalam Raningsih *et al.*, 2021).

Gram negatif memiliki susunan dinding sel yang walaupun tidak kompak tetapi lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Menurut Pelczar & Chan (2006) dalam Pratiwi (2008), *E. coli* memiliki kandungan dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang hanya berkisar 10% dari berat kering selnya serta tidak memiliki asam teikoat, tetapi memiliki kandungan lipid yang terhitung

tinggi (sekitar 11 - 22%). Struktur dari dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan luar oleh lipopolisakarida (lipid yang dirangkaikan dengan polisakarida), lapisan tengah oleh lipoprotein (lipid yang dirangkaikan dengan protein), dan lapisan dalam oleh peptidoglikan sehingga senyawa antimikroba menjadi lebih sulit untuk masuk ke dalam sel (Silva *et al.*, 2012). Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif terletak di bagian membran periplasma (suatu membran yang terdapat diantara membran plasma (membran dalam) dan membran luar). Lapisan lipopolisakarida yang tebal merupakan bentuk pertahanan bakteri Gram negatif terhadap zat-zat asing, termasuk senyawa antibakteri (Pelczar & Chan, 2006; Pratiwi, 2008).

Bakteriosin yang dihasilkan *L. plantarum* disebut *plantaricin*. *Plantaricin* merupakan bakteriosin yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak permeabilitas membran sel. Pada mekanisme ini, bakteriosin teradsorpsi oleh bakteri yang rentan pada reseptor yang spesifik, selanjutnya terjadi perubahan permeabilitas dan integritas membran menyebabkan sel kehilangan kemampuannya untuk membelah diri dan terjadi lisis (Marwati *et al.*, 2012).

Penghambatan bakteri Gram positif oleh bakteriosin diduga melalui mekanisme berupa pembentukan kompleks antara bakteriosin dan asam lipotekoat yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram positif, untuk mengawali insersi kerusakan membran sel bakteri tersebut. Asam lipotekoat yang merupakan jenis dari asam tekoat, yang merupakan molekul anion pada permukaan bakteri Gram positif baik pada bakteri Gram positif yang resisten maupun sensitif (Usmiati dan Rahayu, 2011). Selain itu, bakteriosin umumnya bersifat kationik (karena mengandung residu lisil dan arginil yang berlebih) yang tersusun dari 12-45 asam

amino (Moll *et al*., 1999). Sementara itu, bakteri Gram positif mengandung lipid anionik pada membrannya. Lipid atau fosfolipid anionik inilah yang diikat dengan cepat oleh bakteriosin, sehingga menginisiasi terjadinya kerusakan membran sel bakteri (Moll *et al*., 1999). Kedua hal tersebut menyebabkan bakteri Gram positif mudah diserang atau dihambat oleh bakteriosin. Setelah terjadi pengikatan antara membran sel atau sel reseptor bakteri oleh bakteriosin, terjadi pembentukan lubang, kemudian sel bakteri mengalami degradasi DNA seluler, pemotongan spesifik pada 16S rDNA, dan penghambatan sintesis peptidoglikan. Pada akhirnya sel akan mengalami lisis atau kematian (De Vuyst dan Vandamme, 1994 dalam Abu bakar, 2015).

Aktivitas yang dimiliki oleh bakteriosin dari *L. plantarum* FNCC 0026 dalam menghambat *E. coli* dikarenakan dinding luar bakteri *E. coli* bersifat permeabilitas tinggi sehingga bakteriosin lebih sulit masuk ke dalam sel bakteri yang mengakibatkan tidak terhambatnya pertumbuhan. Selain itu, *E. coli* memiliki membran luar lipoprotein yang mengandung molekul protein yaitu porin dan lipopolisakarida. Porin inilah yang bersifat hidrofilik, sedangkan bakteriosin bersifat hidrofobik. Karena perbedaan sifat inilah, molekul bakteriosin menjadi lebih sukar masuk ke dalam bakteri (Widyasanti *et al.*, 2015). Tortora *et al* (2007) menambahkan aktivitas hambat bakteriosin terhadap *E. coli* diduga karena adanya sisi aktif pada bakteriosin yang bersifat sangat hidrofobik (atau bermuatan negatif), sehingga mampu mengikat Mg2+ pada membran luar *E. coli*. Terikatnya ion-ion Mg2+ oleh bakteriosin akan menghilangkan integritas lapisan lipopolisakarida dan merusak membran luar dinding sel *E. coli*.

Dalam aplikasinya, bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. plantarum* FNCC

0026 ini mampu bekerja pada suhu ruang (25°C) hingga suhu 100°C. Berdasarkan profil ini, bakteriosin ini cocok untuk digunakan sebagai pengawet makanan alami baik untuk yang tidak membutuhkan proses pemanasan seperti daging segar maupun produk makanan yang membutuhkan pemanasan suhu tinggi seperti sosis, kornet dan makanan kaleng.

4.2.2 Stabilitas Bakteriosin terhadap variasi pH

Faktor pH seringkali menjadi pertimbangan bagi bahan pengawet yang akan diaplikasikan pada bahan pangan khususnya bahan hasil peternakan dengan kondisi pH yang rendah, diantaranya yaitu susu, keju, daging sapi,ham, bakso, kornet dan lain-lain (Jay, 2000 dalam Suwayvia, 2017). Karakterisasi bakteriosin pada variasi pH bertujuan untuk melihat ketahanan bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 terhadap kondisi pada berbagai pH yang terdiri dari rentang pH asam hingga basa meliputi pH 2, 4, 6, dan 8. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahakan HCl 1N dan NaOH 1N. Adapun diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3. Pengaruh Variasi pH terhadap Diameter Zona Hambat (mm) Bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 pada Bakteri Uji

Perlakuan	Zona Hambat (mm)	
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*
2	18,275b	16,835c
4	6,172a	6,128b
6	4,048a	3,700a
8	3,582a	2,405a

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata menurut Uji Duncan α 5%

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa perlakuan variasi pH mempengaruhi aktivitas penghambatan bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. plantarum* FNCC 0026. Hasil

analisis ragam menunjukkan signifikansi < 0,05 yang berarti terdapat pengaruh perlakuan variasi pH terhadap aktivitas dari bakteriosin. Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa pada pengujian antibakteri *Staphylococcus aureus*, perlakuan pH 2 menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda nyata dengan semua perlakuan, sedangkan perlakuan pH 4, 6 dan 8 menghasilkan diameter zona hambat yang tidak berbeda nyata. Diameter zona hambat pada perlakuan pH 2 dan 4 berbeda dengan semua perlakuan pada pengujian antibakteri *E coli*, sedangkan perlakuan pH 6 dan 8 menghasilkan diameter zona hambat yang tidak berbeda nyata. Hal ini membuktikan bahwa bakteriosin yang dihasilkan *L. plantarum* FNCC 0026 stabil terhadap kondisi pH 2-8 ditandai dengan masih terbentuknya zona hambat pada uji antibakteri, namun sifat antibakterinya berkurang seiring dengan bertambahnya nilai pH.

Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap S. *aureus* dan *E coli* pada rentang pH yang luas yaitu pH 2 hingga pH 8. Aktivitas hambat terbesar pada pH 2 dengan kategori kuat yaitu sebesar 16,835 mm terhadap bakteri *E. coli* dan sebesar 18,275mm dengan terhadap bakteri *S.aureus*. Perlakuan pH 4 dihasilkan zona hambat kategori sedang yakni sebesar 6,172 mm terhadap bakteri *S.aureus* dan 6,128 mm terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan pada perlakuan pH 6 dan 8 menghasilkan zona hambat dengan kategori lemah sebesar 4,048 dan 3,582 mm terhadap bakteri *S.aureus*, serta 3,700 dan 2,405 mm terhadap bakteri *E. coli*. Semakin bertambahnya nilai pH, zona hambat yang terbentuk semakin kecil. Tingginya zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan pH 2 disebabkan karena protein antimikroba bakteriosin masih terlarut sempurna selain itu disebabkan oleh kondisi pH media yang jauh dari

pH isoelektris sebagian besar asam-asam amino bakteriosin. Triyono (2010), menyatakan bahwa semakin jauh perbedaan pH dari titik isoelektrik maka kelarutan protein akan semakin meningkat.

Lehninger (1982) dalam Pratiwi (2018) menyebutkan bahwa pengaruh pH didasarkan pada adanya perbedaan muatan antara asam-asam amino penyusun protein, daya tarik menarik yang paling kuat antar protein terjadi pada pH isoelektrik, sedangkan pada pH di atas dan di bawah titik isoelektrik, protein akan mengalami perubahan muatan yang menyebabkan menurunnya daya tarik menarik antar molekul protein, sehingga molekul lebih mudah terurai. Parada (2007) menambahkan bahwa aktivitas antibakteri umumnya semakin meningkat pada pH yang asam. Hal ini disebabkan karena pH asam dapat meningkatkan interaksi bakteriosin dengan reseptor membran. Molekul akan lebih banyak menempel pada dinding sel, sehingga molekul yang sifatnya bakterisidal akan semakin kuat.

Hasil penelitian berbeda sedikit dengan penelitian Ogunbawo (2003) yang menyatakan bahwa bakteriosin *Lactobacillus brevis* OG1 stabil pada pH 2-8 sedangkan *Lactobacillus plantarum* F1 stabil pada rentang pH 2-6. Sedangkan pada penelitian Narimo *et al* (2018) Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* asal es pisang ijo, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* asal *ce hun tiau* memilki aktivitas pada rentang pH 2-10. Hata (2010) menyatakan bahwa *plantaricin* ASM 1 stabil pada pH 5,5 hingga pH 8,5. Sunaryanto dan Tarwadi (2015) menambahkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus lactis* stabil pada rentang pH 3 sampai dengan 7, namun pada pH di bawah 3 dan di atas 7 mengalami penurunan aktivitas.

De Vuyst dan Vandamme (1994) dalam Suwayvia (2017) menyebutkan

bahwa respon sensitivitas bakteriosin sangat berbeda-beda terhadap inaktivasi oleh perubahan pH dan suhu. Banyak bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat hanya stabil pada pH asam dan netral dan tidak aktif pada pH diatas 8 (seperti nisin, lactosptrepcin, pediocin AcH, dan lain lain). Suhardi (1991) dalam Triyono (2010) menyatakan tiap-tiap asam amino memiliki titik isoelektrik yang berbeda-beda. Titik isoelektrik adalah saat pH asam amino berada pada bentuk amfoter (zwitter ion), dan pada saat titik isoelektrik ini kelarutan protein menurun dan mencapai angka terendah, protein akan mengendap dan menggumpal. Titik isoelektrik bakteriosin yang dihasilkan bakteri asam laktat adalah sekitar 8,0-9,0 dan kelarutan bakteriosin semakin menurun seiring dengan meningkatnya nilai pH. Semakin jauh perbedaan pH media dari titik isoelektrik maka kelarutan protein akan semakin meningkat (Triyono, 2010).

Stabilitas bakteriosin pada kisaran pH yang luas penting kaitannya dalam penerapannya sebagai biopreservatif pada berbagai jenis pangan, baik pangan dengan asam tinggi, netral maupun basa. Bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 ini aktif dan stabil pada pH 2 hingga pH 8 sehingga cocok digunakan untuk pangan dengan pH asam hingga basa. Gautam (2014) menambahkan bahwa stabilitas bakteriosin pada pH netral cocok untuk diaplikasikan pada produk makanan dengan pH netral dan dapat digunakan sebagai alternatif menggantikan nisin yang hanya aktif pada pH 5,0 dan 5,5. selain itu dapat digunakan sebagai bahan pengawet produk-produk fermentasi maupun produk ikan dalam kaleng dengan medium saus tomat yang bersifat asam dan produk pangan asam (*salad dressing*) (Sunaryanto dan Tarwadi, 2015). Meskipun suatu pangan sudah dalam suasana asam (pH rendah) juga dapat memungkinkan terjadinya pertumbuhan

mikroba. Menurut Pigott dan Tucker (1990) dalam Andriani (2013), ada beberapa bakteri yang bersifat toleran terhadap keasaman misalnya *Lactobacilli Acetobacter,* dan *Sarcina ventriculi* (patogen penyebab gastritis emfisematous). Bakteri yang bersifat asidofilik misalnya *Thiobacillus* dan jamur yang umumnya dapat hidup pada kisaran pH rendah sehingga tetap diperlukan bakteriosin sebagai biopreservatif untuk menghambat pertumbuhan mikroba serta memperpanjang masa simpan suatu bahan pangan tersebut.

4.3 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

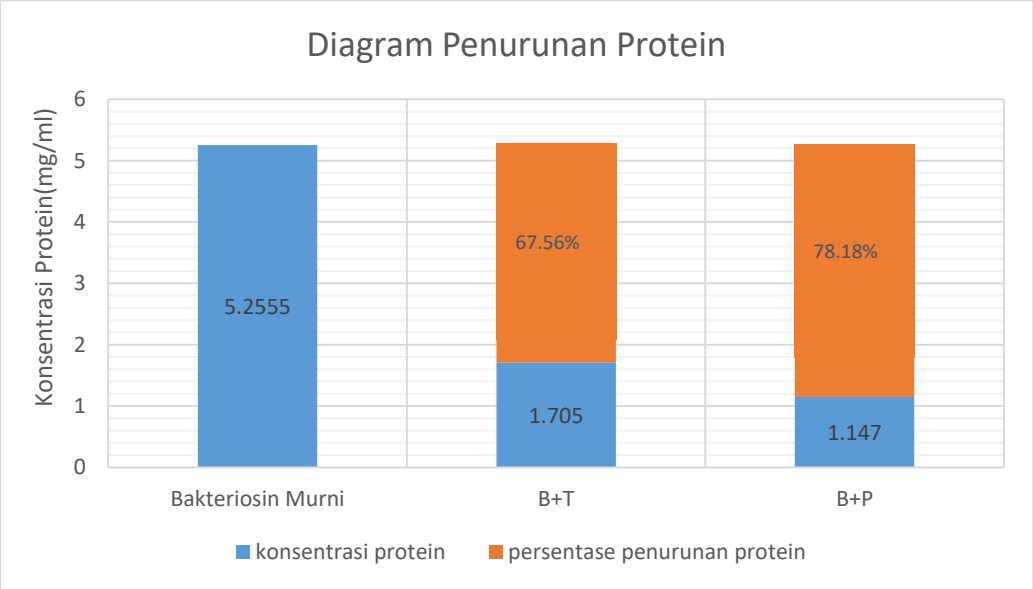
Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 diuji aktivitasnya terhadap penambahan enzim-enzim yang terdiri dari enzim tripsin dan enzim pepsin. Tujuan dari uji sensitivitas enzim proteolitik adalah memastikan bahwa bakteriosin yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* FNCC0026 aman dikonsumsi. Bakteriosin merupakan protein yang mudah terdegradasi oleh adanya enzim proteolitik sehingga aman digunakan sebagai agen biopreservatif pada bahan pangan. Adapun konsentrasi protein bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC0026 dengan penambahan enzim proteolitik disajikan pada tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4. Konsentrasi Protein Bakteriosin dengan Penambahan Enzim Proteolitik

Perlakuan	Konsentrasi Protein(mg/ml)
Kontrol Bakteriosin	5,255
Bakteriosin+ Tripsin	1,705
Bakteriosin+ Pepsin	1,147

Berdasarkan data pada Tabel 4.4 penurunan konsentrasi protein bakteriosin terjadi setelah diberi penambahan tripsin yang diinkubasi selama satu jam pada suhu 25 ^{o}C dan perlakuan pepsin yang diinkubasi selama satu jam pada suhu 37 ^{o}C.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa penambahan enzim tripsin dan pepsin berpengaruh secara signifikan ($p<0,05$) terhadap penurunan konsentrasi protein dihasilkan oleh bakteriosin dari *L. plantarum* asal asinan sayur. Hal tersebut menandakan bahwa enzim proteolitik mampu mendegradasi protein atau peptida - peptida yang merupakan komponen aktif utama didalam bakteriosin. Data penurunan konsentrasi protein bakteriosin diolah lebih lanjut dalam bentuk persentase penurunan konsentrasi protein, sehingga dapat terlihat lebih jelas bagaimana sensitivitas dari bakteriosin terhadap degradasi enzim proteolitik. Persentase penurunan konsentrasi protein dari bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 dapat dilihat secara lengkap pada Gambar 4.3



Gambar 4.3. Histogram Persentase (%) Penurunan Konsentrasi Protein Bakteriosin Murni setelah Didegradasi Enzim proteolitik

Berdasarkan data pada Gambar 4.3 diketahui bahwa, persentase penurunan konsentrasi protein bakteriosin yang ditambah enzim tripsin cenderung lebih rendah dibandingkan penambahan enzim pepsin, hal ini dapat dilihat dari persentase

penurunan proteinnya yaitu 67,56% dengan penambahan tripsin dan 78,18% dengan penambahan pepsin. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pepsin dan tripsin memiliki respon yang berbeda terhadap asam-asam amino yang dapat dihidrolisis. Enzim tripsin merupakan enzim endopeptidase yaitu mengkatalisis hidrolisa pada peptida dibagian tengah rantai. Enzim tripsin tidak mengkatalisis hidrolisa untuk semua ikatan peptida, enzim tripsin hanya akan memecah ikatan peptida pada gugus yang spesifik, yaitu gugus karbonil residu lisin dan agrinin (Suhartono, 1998 dalam Ayuningtyas, 2012). Sedangkan enzim pepsin memotong ikatan peptida terutama ikatan peptida pada sisi terminal C dari residu tirosine,fenilalanin, leusin, tirosin, dan triptofan (Prastika *et al*, 2019, Ismanto, 2017). Urutan asam amino dari bakteriosin dapat menjadi faktor penentu degradasi bakterisoin tersebut oleh enzim proteolitik. Bakteriosin yang berasal dari bakteri asam laktat yang berbeda, dapat memiliki urutan asam amino yang sama ataupun berbeda. Umumnya bakteriosin memiliki kurang dari 60 jenis asam amino, namun efisiensi aksi bakterisidalnya tidak bergantung pada banyaknya asam amino yang terkandung dalam bakteriosin tersebut (Ray dan Bhunia, 2007). *Plantaricin* ASM1 yang telah diteliti sebelumnya, diketahui terdiri atas 43 residu asam amino, dengan titik isoelektrik pada pH 6,97 (Hata *et al*., 2010)

Presentase penurunan protein bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 dengan penambahan enzim proteolitik tidak jauh berbeda dengan penelitian Ayuningtyas (2012) yang mana presentase penurunan protein bakteriosin *L. plantarum* 2B2 sebesar 66,02% dengan penambahan enzim tripsin yang menandakan bahwa bakteriosin sensitif terhadap enzim proteolitik. Sari *et al*, (2018) juga menyatakan bahwa zona hambat bakteriosin yang dihasilkan oleh *L.*

plantarum asal *ce hun tieu* setelah penambahan enzim tripsin dan pepsi menghilang, hal itu membuktikan bahwa bakteriosin merupakan protein alami yang dapat dirusak oleh salah satu enzim yang terdapat didalam saluran pencernaan dan membuatnya aman dikonsumsi oleh manusia.

4.4 Bakteriosin dan Bakteri dalam Pandangan Islam

Pemurnian protein antimikroba dari *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 ini bertujuan untuk mendapatkan protein murni dari bakteri asam laktat. *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 sendiri merupakan bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan sayur. Protein antimikroba murni yang diperoleh kemudian dikarakterisasi untuk mengetahui kestabilannya pada beberapa kondisi. Protein ini nantinya diharapkan dapat berguna sebagai bahan preservasi makanan, menggantikan bahan pengawet buatan.

Dalam menjalani kehidupan, seorang muslim harus memperhatikan *mu'amalah ma'a Allah, mu'amalah ma'annas*, dan *mu'amalah ma'a alam*. Tiga perkara ini bernilai ibadah dan merupakan misi kehidupan manusia sebagai khalifah di muka bumi. *Mu'amalah ma'a Allah* adalah hubungan manusia dengan sang pencipta yaitu Allah. Salah satu pengamalan *mu'amalah ma'a Allah* adalah dengan mensyukuri atas rezeki dan nikmat yang telah Allah SWT berikan kepada manusia salah satunya yaitu akal. Bentuk syukur atas nikmat ini dapat dilakukan dengan senantiasa melihat dan berpikir akan adanya tanda-tanda kebesaran Allah. sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah al-Imran [3]: 190-191):

اِنَّ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَاخْتِلَافِ الَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَاٰيٰتٍ لِّاُولِى الْاَلْبَابِ ۙ ١٩٠ الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّقُعُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ ۚ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًا ۚ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ١٩١

Artinya: "*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka"* (al-Qur'an surah al-Imran [3]: 190-191).

Berdasarkan Tafsir Al-Maraghi (1986), ayat tersebut menjelaskan bahwa orang-orang yang berakal (ulul albab), yaitu orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah, hidayah, dan menggambarkan keagungan Allah SWT. Dari firman Allah ini, terdapat perintah Allah SWT kepada manusia yang telah diberi kelebihan akal untuk meneliti dan mengkaji segala sesuatu yang ada di langit dan bumi, karena tidak ada hasil ciptaan Allah SWT yang sia-sia. Semua ciptaan Allah memiliki manfaat dan harus dimanfaatkan. Sebagai manusia yang berakal, merupakan bentuk petunjuk bagi manusia untuk lebih mengkaji dan meneliti segala ciptaan-Nya. Salah satunya dengan melakukan penelitian tentang bakteriosin ini sebagai bentuk pengamalan *mu'amalah ma'a Allah.*

Bakteiosin merupakan protein antimikroba yang mampu mencegah terjadinya pembusukan pada makanan dengan cara menekan pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri penyebab pembusukan (Nurraifah *et al.*, 2021), sehingga dapat digunakan sebagai biopreservatif untuk memenuhi keperluan hidup manusia. Allah *Subhanahu wa ta'ala* berfirman dalam al-Qur'an surah al-Hijr [15]: 20:

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيْهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَّسْتُمْ لَهٗ بِرٰزِقِيْنَ ٢٠

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"* (al-Qur'an surah a-Hijr [15]: 20).

Menurut Tafsir Kementrian Agama Republik Indonesia (2019) ayat ini menerangkan anugerah Allah SWT yang tidak terhingga kepada manusia. Dia telah menciptakan bermacam-macam keperluan hidup bagi manusia, salah satunya keperluan dalam menggunakan biopreservatif dari bakteriosin. Biopreservatif ini diharapkan dapat menggantikan penggunaan bahan-bahan pengawet sintetis yang diketahui dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. Bentuk *mu'amalah ma'an-Nas* yang berarti hubungan dengan sesama manusia yaitu dengan saling memberi manfaat satu sama lain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 stabil terhadap suhu pemanasan, pH, dan sensitif terhadap enzim proteolitik sehingga cocok digunakan sebagai pengawet alami pada bahan pangan. Alternatif penggunaan bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 dapat dimanfaatkan untuk mengurangi penggunaan pengawet sintetis yang dapat beresiko terhadap kesehatan manusia, karena sejatinya sesama manusia harus saling menjaga satu sama lain dan saling memberi manfaat.

Allah SWT berfirman dalam al-Qur'an surah al-A'raf [7]: 56

وَلَا تُفْسِدُوْا فِى الْاَرْضِ بَعْدَ اِصْلَاحِهَا وَادْعُوْهُ خَوْفًا وَّطَمَعًا ۗاِنَّ رَحْمَتَ اللّٰهِ قَرِيْبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِيْنَ ٥٦

Artinya: "*Janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah diatur dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat dengan orang-orang yang berbuat baik"* (al-Qur'an surah al-A'raf [7]: 56)

Al-Mahalli dan As-Suyuti (2007) dalam *tafsir Jalalain* menjelaskan bahwa *lafadz wa laa tufsiduu fil ardi* bermakna "dan janganlah kamu membuat

kerusakan di muka bumi dengan melakukan kemusyrikan dan perbuatan- perbuatan maksiat". Larangan membuat kerusakan ini mencakup semua bidang, seperti merusak pergaulan, jasmani dan rohani orang lain, kehidupan dan sumber-sumber penghidupan (pertanian, perdagangan, dan lain-lain), merusak lingkungan dan lain sebagainya. Bumi ini sudah diciptakan Allah dengan segala kelengkapannya, seperti gunung, lembah, sungai, lautan, daratan, hutan dan lain-lain, yang semuanya ditujukan untuk keperluan manusia, agar dapat diolah dan dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya untuk kesejahteraan mereka. Diketahui bahwa *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 merupakan hasil isolasi dari asinan sayur. Sayur merupakan hasil alam yang biasanya hanya dikonsumsi, namun diketahui bahwa hasil alam tersebut juga dapat digunakan sebagai media pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* yang dapat menghasilkan bakteriosin. Dengan penelitian ini, bakteriosin tersebut dikarakterisasi untuk siap digunakan sebagai biopreservatif, sehingga secara tidak langsung ini merupakan bentuk pemanfaatan hasil alam dengan baik sebagai bentuk pengamalan *mu'amalah ma'a alam*.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Produksi optimum bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 yaitu pada jam ke-24. Bakteriosin murni didapatkan melalui tahap purifikasi dan dialisis. Dihasilkan sebanyak 30 mL bakteriosin murni dari produksi awal sebanyak 100 mL. Bakteriosin *L. plantarum* FNCC 0026 mampu menghambat *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Bakteriosin asal *L. plantarum* FNCC 0026 stabil pada suhu ruang (25 °C) hingga suhu 100°C dengan luas zona hambat 2,560 – 6,602 mm dengan kategori kuat pada suhu ruang dan 65°C dan kategori sedang pada suhu 80°C dan 100^{0}C (pengujian terhadap *S. aureus*), kategori sedang pada perlakuan suhu ruang, 65°C, 80°C dan kategori lemah pada suhu 100°C (pengujian terhadap *E. coli),* dan stabil pada variasi pH 2, 4, 6 dan 8 dengan nilai penghambatan terhadap bakteri patogen sebesar 2,405 – 18,275 mm dengan kategori kuat pada perlakuan pH 2, sedang pada perlakuan pH 4, dan lemah pada perlakuan pH 6 dan 8.
3. Bakteriosin yang dihasilkan *L. plantarum* FNCC 0026 sensitif terhadap enzim proteolitik tripsin dan pepsin dengan konsentrasi penurunan protein sebesar 67,56 % dan 78,18%

5.2 Saran

Perlu karakterisasi lanjutan terkait kestabilan bakteriosin *L.plantarum* FNCC 0026 terhadap suhu penyimpanan dingin serta berat molekul bakteriosin.

DAFTAR PUSTAKA

Abu bakar, Arpah. (2015). Pengaruh pH dan Suhu Pada Produksi Bakteriosin Dari Bakteri Asam Laktat Galur M6-15. Program Studi Kimia. FMIPA: IPB

Alawiyah, Dela Dwi. (2019). Aktivitas Antibakteri Filtrat Hasil Pertumbuhan *Lactobcillus plantarum* Terhadap Bakteri *Escherichia coli, Salmonella typhi*, Dan *Bacillus subtilis Secara* In Vitro. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jembar

Al-Mahalli, Imam Jalaluddin dan As-Suyuti. (2007). *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrun Abubakar. Bandung: Sinar baru Algensindo

Alwan, A. H., & Talak, M. A. (2015). Isolation and characterization of Staphylococcus aureus in spoiled food samples. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, *4*(3), 645-651.

Anas, M., Ahmed, K., & Mebrouk, K. (2014). Study of the antimicrobial and probiotic effect of Lactobacillus plantarum isolated from raw goat's milk from the region of Western Algeria. *World Applied Sciences Journal*, *32*(7), 1304-1310.

Andriani, A. (2013). Analisis Total Mikroba dan Nilai Gizi (Protein) pada *Lawa Bale* Makanan Tradisional Sulawesi Selatan. *Doctoral dissertation.* Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Andarilla, W., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). Optimasi aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh Lactobacillus casei dari sotong kering. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, *7*(2), 187-196.

Anggraeni, L., Lubis, N., & Junaedi, E. C. (2021). Pengaruh Konsentrasi Garam Terhadap Produk Fermentasi Sayuran: Review: Effect of Salt Concentration on Fermented Vegetable Products. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, *3*(6), 891-899.

Angkuna, S. A. (2019). Penentuan waktu optimum produksi bakteriosin dari Lactobacillus casei terhadap bakteri patogen Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, *4*(1)..

Ayuningtyas, Gilang. (2012). Karakterisasi *Plantaricin* Asal Empat Galur *Lactobacillus Plantarum* Berdasarkan Sensitivitasnya Terhadap Enzim Tripsin. S*kripsi.* Departemen Ilmu Produksi Dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor

Bahreisy, H. (1988). *Terjemah Singkat Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4*. Kuala Lumpur: Victory Agencie

Barman, S., Ghosh, R. & Mandal, N.C., (2018), Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *Lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk, *Annals of Agrarian Science* 16(3), 286-296.

Barzavar dan Rahimifard, N. (2015). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Lactobacillus Gasseri as Probiotic Bacteria against Salmonella Enterica Sero Type Entertidis. *GMP Review*. 16(4): 56-64

Bergey's. (2005). *Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Microbiologyand Molecular Genetics: Michigan State University

Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, & M. Wooton. (1987). *Ilmu Pangan*. Terjemahan: H. Purnomo & Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta

Caldera-Olivera, F., Caron, G.R. dan Brandelli, A. (2003). Bacteriocins Production by *Bacillus licheniformis* P40 in Cheese Whey Using Response Surface Methodology. *Biochemical Engineering Journal* (21) : 53 – 58.

Chaudhary, Aditya and Baljeet Singh Saharan, Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum*, *J Pure Appl Microbiol*., 2019; **13**(**2**): 933-948 doi: 10.22207/JPAM.13.2.30

Chauhan, Dr & Gaur, Umar & Khan, Mohammed. (2017). Efficacy of medicinal plants against human pathogens isolated from western Himalayas of Himachal Pradesh. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 10. 353. 10.22159/ajpcr.2017.v10i9.19708.

Damanik , Ranita Nauli. (2018). Efektivitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L)Dan Jahe Merah (*Zingiber officinalevar rubra*) Sebagai Pengendali *Escherichia coli* Pada Ayam Broiler. *Skripsi*. Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara

Day, R. A. Jr. & A. L. Underwood. (2002). *Analisis Kimia Kuantitatif* . Jakarta: Erlangga

Dundar, Halil. (2006). Characterization and Purification of A Bacteriocin Produced by Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris. *Thesis.* Middle East Technical University

Dunn BM (Nov 2001). "Overview of pepsin-like aspartic peptidases". *Current Protocols in Protein Science*. Chapter 21: Unit 21.3.

Dride, Djamel, Gunnar Fimland, Yandd Hechard, Lynn M. McMullen, and Herve Prevost. 2006. The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70 (2).

Emanuel, V., Adrian, V., Ovidiu, P. & Gheorghe, C. (2005) Isolation of a Lactobacillus plantarum strain used for obtaining a product for the preservation of fodders. African Journal of Biotechnology, 4, 403– 408

Fachrial, Edy, and Harmileni. (2018). Aktivitas Antimikroba Dan Identifikasi

Molekuler Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari " Pliek U ", Makanan Fermentasi Tradisional Asal Aceh , Indonesia. *Seminar Nasional Universitas Pasir Pengaraian* 1(1):82–87.

Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Fatimah, M. P., Megantara, I., & Anggaeni, T. T. K. (2020). Kajian Pustaka: Pemanfaatan Bakteriosin dari Produk Fermentasi sebagai Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus. *Indonesia Medicus Veterinus*, *9*(5), 835-848.

Fevria, R., & Hartanto, I. (2019). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus* sp) from Sauerkraut with the addition of Cayenne Pepper. *Bioscience*, *3*(2), 169-175.

Fitriyani, Ida. (2012). Isolasi , Karkterisasi, dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Matang yang Berpotensi Menghasilkan Antimikroba. *Skripsi*. Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta

Gautam N., Sharma N. (2014). Purification and Characterization of Bacteriocin Produces by Lactobacillus brevis UN isolated from Dhulliachar: A Traditional Food Product of North East India. *Ind J Microbiol*. 54: 185-189

Hafsan. (2014). Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservatif Pangan. *Jurnal Tekno Sains*. 8 (2).

Harianie, Liliek. 2013. Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan Aplikasinya sebagai Pengawet Daging. *El Hayah*. 4 (1).

Hasanah, U., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari Lactobacillus brevis Terhadap Bakteri Patogen Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, *4*(1).

Hata, T., R. Tanaka., & S., Ohmomo. (2010). Isolation And Characterization Of Plantaricin ASM1: A New Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* A-1. *J. Food Microbiology. 137 : 94-99.*

Hayati, Elok Kamilah. (2015). Pengawet Makanan. *Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)* 10(2):1–66.

Hidayatulloh, A., Gumilar, J., & Harlia, E. (2019). Potensi senyawa metabolit yang dihasilkan Lactobacillus plantarum atcc 8014 sebagai bahan biopreservasi dan anti bakteri pada bahan pangan asal hewan. *Jitp*, *7*(2), 1-6.

Huang, C. H., Li, S. W., Huang, L., & Watanabe, K. (2018). Identification and classification for the Lactobacillus casei group. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 1974..

Ismanto, A. (2017). Evaluasi Proses Hidrolisis Enzimatis Protein DagingRusa Sambar (Rusa unicolor) Menggunakan Enzim Pepsin dan Tripsin. *Jurnal Pertanian Terpadu*, *5*(2), 1-8. https://doi.org/10.36084/jpt.v5i2.122

Istiani, H. G., & Agustiani, E. (2021). Higiene Penjamah, Sanitasi Pengolahan Makanan, dan Penyajian Makanan Berhubungan dengan Keberadaan Bakteri Escherichia Coli pada Makanan Jajanan Anak Sekolah. *Jurnal Kesehatan Pertiwi*, *3*(1), 173-178.

Jagadesswari, S., Vidya, P. (2010). Isolation and Characterization of Bacteriocin Producing Lactobacillus sp. From Traditional Fermented Food. Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry 9(3):575-581.

Jati, Anis Usfah Prastu. (2012). Produksi Bakteriosin Kasar *Lactobacillus plantarum* 2C12, 1A5, 1B1 dan 2B2 Asal Daging Sapi Serta Aktivitas Antimikrobanya Terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi*. Fakultas Pertenakan . Institut Pertanian Bogor

Jeevaratnam, K., M. Jamuna, & A.S. Bawa. (2005). Biological preservation-bacetiocin of lactic acid bacteria. *J. Indian Journal of Biotechnology*. 4: 446-454.

Juariah, S. (2021). Media Alternatif Pertumbuhan Staphylococcus aureus Dari Biji Durian (*Durio zibethinus* murr). *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, *9*(1), 19-25.

Karpinski, T. M. dan Szkaradkiewicz, A. K. (2013). Microbiology of dental caries. *Medicine review Journal of Biology and Earth Sciences J Biol Earth Sci*. 201(31):21–24.

Kemenag. (2019). Mushaf al-Qur'an Standar Indonesia dan Layanan Pentashihan. Jakarta:Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an

Khoiriyah, Hanimatul dan Puji Ardiningsih. (2014). Penentuan Waktu Inkubasi Optimum terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED4. JKK. Volume 3 (4): 52-56

Kusharyati, D. F., Ryandini, D., & Hendrati, P. M. (2020). Produksi Bakteriosin Bifidobacterium Bb2e dengan Metode Amonium Sulphate Precipitation

Dan Uji Penghambatannya Terhadap Bakteri Multi Drugs Resistant (Mdr). *Prosiding*, *9*(1).

Kusmarwati, Arifah, Fadila Rachman Arief dan Sakinah Haryati. (2014). Eksplorasi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Rusip Bangka dan Kalimantan. *JPB Perikanan*. 9(1): 29-40.

Kusmiati., dan Malik, A., (2002). Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada berbagai media. *Makara Kesehatan*, Vol. 6 No. 1, p. 1–7.

Lei, S., Zhao, R., Sun, J., Ran, J., Ruan, X., & Zhu, Y. (2020). Partial purification and characterization of a broad-spectrum bacteriocin produced by a Lactobacillus plantarum zrx03 isolated from infant's feces. *Food science & nutrition*, *8*(5), 2214-2222.

Lingga, A. R., Pato, U., & Rossi, E. (2015). *Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (Nicolaia speciosa Horan) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Riau University).

Lv, X., Miao, L., Ma, H., Bai, F., Lin, Y., Sun, M., & Li, J. (2018). Purification, characterization and action mechanism of plantaricin JY22, a novel bacteriocin against Bacillus cereus produced by Lactobacillus plantarum JY22 from golden carp intestine. *Food science and biotechnology*, *27*(3), 695-703.

Mahjani, M., & Putri, D. H. (2020). Growth Curve Of Endophyte Bacteria Andalas Plant (*Morus macroura* Miq.) BJT A-6 ISOLATE. *Serambi Biologi*, *5*(1).

Mansur, D. S., & Hidayat, M. N. (2019). Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Terhadap pH dan Garam Empedu. *Jurnal Ilmu Dan Industri Peternakan*, *5*(1), 27-37.

Maraghi, Ahmad. 1986. *Terjemah Tafsir Al Maraghi 4*. Toha Putra: Semarang

Mardhika, H., Dwiloka, B., & Setiani, B. E. (2020). Pengaruh berbagai metode thawing daging ayam petelur afkir beku terhadap kadar protein, protein terlarut dan kadar lemak steak ayam. *Jurnal Teknologi Pangan*, *4*(1), 48-54.

Martono, Y., Danriani, L. D., & Hartini, S. (2016). Pengaruh Fermentasi terhadap Kandungan Protein dan Asam Amino pada Tepung Gaplek yang Difortifikasi Tepung Kedelai (Glycine max (L)). *Agritech*, *36*(1), 56-63.

Marwati, T., Richana, N., Irinne, D. P., Harmayani, E., & Rahayu, E. S. (2012). Mekanisme Awal dan Aplikasi Antibakteri Pediosin PaF-11 Sebagai Pengawet Tahu. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, *9*(2), 54-62.

Mayangsari, M. (2016). Pemurnian enzim Amilase kasar dari bakteri Amilolitik endogenous bekatul secara parsial menggunakan ammonium sulfat (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

Meng, Q., Q. Cai, B.ShiR. Fu, J. Li, X. Chen, K. Qi , M.dan Zhang, (2012).Optimization of medium composition for production of lacticin LLC518 by Lactococcus lactis subsp. lactis LLC518 using response surface methodology.*Journal of Food, Agriculture & Environment* 10 : 137-142

Moll, G. N., W. N. Konings and A. J. M. Driessen. (1999). Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. *J. Antonie van Leeuwenhoek* 76: 185-198

Najim, Hadi, Zuhair Ahmad Mohammed, Zina Saab Khudir. (2012). The Antibacterial Activity of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus Acidophilus* Isolates Againts Sensitive Reference Strain *Lactobacillus Acidophilus* R0052 and its Stability to Different pH, Heating and Storage Temperatures. *Proceeding of The Eleventh Veterinary Scientific Conference.* 274-279

Narimo, S. (2018). Uji aktivitas antibakteri bakteriosin dari Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, dan Lactobacillus plantarum terhadap bakteri patogen gram positif. *Skripsi. UNTAN: Pontianak*.

Ningsih, N. P., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh Lactobacillus brevis dari Es Pisang Ijo. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains, 7*(2), 233-242.

Noordiana, N., Fatimah A.B dan Mun A.S. (2013). Antibacterial Agents Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp. *International Food Research Journal*. 20 (1): 117-124.

Nurliana, Rabfiani., Hanafiah. (2002). Karakterisasi Awal Bakteriosin Produksi Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dart Pliek U = the Preliminary Characterization of Bac 1eriocin Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated From Pliek U. *Jurnal Sain Veteriner*, vol. 20, no. 1

Nurraifah, Y., Arief, I. I., & Ulupi, N. (2021). Penggunaan bakteriosin yang diproduksi oleh Lactobacillus plantarum sebagai pengawet alami untuk daging ayam yang disimpan di suhu ruang. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, *9*(1), 7-14

Nurul, Adha. (2019). Uji Potensi Filtrat Bakteriosin Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dadih. *Skripsi Universitas Andalas*.

Omar, N.B., H. Abriouel, R. Lucas, & M.Martinez- Canamero. (2006). Isolation Of Bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* Strains From Ben Saalga, A Traditional Fermented Gruel From Burkina Faso. *J. Food Microbiology*. 112: 44-50.

Ooi, May Fong, Nurzafirah Mazlan, Hooi Ling Foo, Teck Chwen Loh, Rosfarizan Mohamad, Raha Abdul Rahim and Arbakariya Ariff. (2015). Effects of Carbon and Nitrogen Sources on Bacteriocin-Inhibitory Activity of Postbiotic Metabolites Produced by Lactobacillus plantarum I-UL4. *Malaysian Journal of Microbiology*. 11(12). 176-184.

Parada, J. L., C. R. Caron, A. B. P. Medeiros, C. Ricardo. (2007). Bacteriocin from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and Use as Biopreservatives. *Brazilian J. Biol. Technol*. 50:521-542

Pato, U., Johan, V. S., Fitriani, S., & Zelviani, P. F. (2019). Karakteristik Asinan Kubis Yang Dibuat Dengan Penambahan Isolat *Lactobacillus plantarum* 1. *Jurnal Teknologi Pangan*, *13*(1), 39-47.

Patrovsky M, Kourimska L, Havlikova S, Markova J, Pechar R, Rada V. (2016). Utilization Of Bacteriocin-Producing Bacteria In Dairy Products. *Mljekarstvo* 66(3): 215-224

Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan, (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*, Universitas Indonesia Press. Jakarta

Permanasari,R.(2008). Karakteristik Substrat Antimikroba Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi Dari Daging Sapi Dan Aktivitas Antagonistiknya Terhadap Bakteri Patogen. Skripsi. Fakultas Peternakan. Bogor:IPB.

Poedjiadi, A., Suprayanti, T. 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M., & Laksmiwati, A. M. (2019). Penggunaan enzim pepsin untuk produksi hidrolisat protein kacang gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang aktif antioksidan. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, *7*(2), 180-188.

Pratiwi, H., Yusasrini, N. A., & Putra, I. N. K. (2018). Pengaruh pH Ekstraksi Terhadap Rendemen, Sifat Fisiko-Kimia dan Fungsional Konsentrat Protein Kacang Gude (Cajanus cajan (L.) Millsp.). *Jurnal ITEPA*, *7*(1).

Pratiwi, Sylvia T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga.

Prissilia, N. (2019). Penentuan waktu optimum produksi bakteriosin dari lactobacillus plantarum terhadap bakteri patogen Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, *4*(1).

Raningsih, M., Wulansari, N. T., & Suarnadi, N. K. (2021). Efektivitas Bakteriosin *Streptococcus thermophilus* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi*, *6*(2), 83-89.

Rawal, Khushboo, Nirav Bavshar, Gopal Raol, B. V. Raol dan J. D. Patel. (2013). Bacteriocin: Production and Optimization by *Lactobacillus* species. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 3(6): 64-76

Ray, B. & A. Bhunia. (2007). *Fundamental Food Microbiology. 4th Edition*. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.

Ray, B. & K.W. Miller. (2003). Bacteriocins other than nisin: the pediocin like cystibiotics of LAB. In : Roller, S. (editor). Natural Antimicrobial for the Minimal Processing of Food. Woodhead Publishing, Ltd., London

Reiny, S.S. (2012). Potensi *Lactobacillus aciddophillus* ATCC 4796 sebagai Biopreservatif pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. *Jurnal IJAS*. 2 (2):604-613.

Rizki, S. A. (2018). Pengaruh konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri bakteriosin yang dihasilkan oleh lactobacillus plantarum (*Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).*

Romualdo, A., Wuryanti, W., & Suprihati, S. (2010). Uji Aktivitas Isolat L-Asparaginase Dari Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb) Terhadap Sel Hela. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, *13*(2), 41-45.

Rosidah, Ria. (2018). Pengaruh pH Media dan Konsentrasi Yeast Ekstrak Terhadap Aktivitas Antibakteri Bakteriosin Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum*. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Negeri Islam Malang

Saenz, Y, Rojo-Bezares. (2009). Genetic Diversity of pln Locus Among Oenological *Lactobacillus plantarum* Strains. *Int J Food Microbial*. 134: 176-183

Saparinto, C. dan Hidayati, D. (2006). *Bahan Tambahan Pangan*. Yogyakarta: Kanisius

Saraswati, P., Nocianitri, K., & Hapsari Arihantana, N. (2021). Pola Pertumbuhan Lactobacillus sp. F213 Selama Fermentasi Pada Sari Buah Terung Belanda (Solanum betaceum Cav.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, *10*(4), 621-633. doi:10.24843/itepa.2021.v10.i04.p08

Sari, Novi Permata., Rafika., Untari. (2018). Antibacterial Activity Test of

Bacteriocin from *Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* Against Gram Positive Pathogenic Bacteria. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 3(3):85. doi: 10.22146/jtbb.38138.

Savadogo, A.,A.T.Q. Cheik, H.N.B. Imael & S.A. Traore. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria- a minireview. *Afric. J. Biotechnol*. 5(9): 678-683.

Selvia, R. I., Wuryanti, W., & Sriatun, S. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, *16*(3), 97-101.

Setyati, Wilis Ari dan Subagiyo. (2012). Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan Vol. 17 (3) 164-168*

Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir Al Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati

Sihombing, S. Y., Antara, N. S., & Triani, G. A. L. (2021). Pengaruh Lama Pemanasan Bakteriosin dari Isolat Bal PR. 6.10. 5 dan PR. 6.15. 2 Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, *9*(3), 416-426.

Simarmata, R, Lekatompessy, S, Sukiman, H. (2007) Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (Gymura procumbens) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. Berk. Penel. Hayati. 13 : 85-90

Singh, R., Sivasubramani, K., Jayalakshmi, S., (2013). *Isolation And Production Of Bacteriocin By Marine Lactobacillus Fermentum Sbs 001*. Int. J. Curr.Microbiol. App. Sci., 2(4), 67–73

Siswara, H. N. (2019). Plantarisin Asal Lactobacillus Plantarum IIA-1A5 Sebagai Pengawet Alami Daging Ayam Bagian Paha Pada Suhu Refrigerator. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan* 7(3):123–30. doi: 10.29244/jipthp.7.3.123-130.

Sitompul, Maruli. 2015. Penilaian Kadar Air, Ph Dan Koloni Bakteri Pada Produk Daging Babi Merah Di Kota Manado. *Zootec* 35(1):117. doi: 10.35792/zot.35.1.2015.7108.

Sobari, Enceng. 2019. *Dasar-Dasar Proses Pengolahan Bahan Pangan.* Diterbitkan Oleh Penerbit Polsub Press: Subang jawa barat

Soenarno, Mochammad Sriduresta et al. 2020. Karakterisasi Plantarisin IIA-1A5 Sebagai Antimikroba Dan Evaluasi Aktivitas Sediaan Kering Beku

Terenkapsulasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 9(1):30. doi: 10.17728/jatp.5480.

Sumonsiri, N. (2019). Effect of nisin on microbial, physical and sensory qualities of micro-filtered coconut water (cocos nucifera L.) during refrigerated storage. Current Research in Nutrition and Food Science, 7(1), 236–243

Sunaryanto & Tarwadi, 2015,. Isolation and Characterization of Bacteriosin from *Lactobacillus lactis* Isolated from Marine Sediment. *JPB Kelautan dan Perikanan Vol. 10 No. 1*

Sunaryanto, Rofiq, and Bambang Marwoto. 2013. Isolasi, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia* 14(3):228–33. doi: 10.29122/jsti.v14i3.931.

Surjowardojo, P., Susilorini, Tri Eko, & Sirait, Gabriel Ruth Batsyeba. 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestrs* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Ternak Tropika*, 16(2), 40–48.

Suryani. 2012. Produksi Rekombinan Plantaricin Yang Mengkode Bakteriosin Dari Lactobacillus Plantarum S34 Asal Isolat Bekasem Daging Sapi Untuk Menanggulangi Demam Typhoid (Production of Recombinant Plantaricin Encoding Bacteriocin from Lactobacillus Plantarum S34 Isol. 322–23

Sutrisna, R., Ekowati, N., dan Rahmawati, D. (2012). Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Asam LaktatUsus Itik (Anas domestica) pada Bakteri Gram positif dan Pola Pertumbuhan Isolat Bakteri Usus itik pada Media MRS Broth. Jurnal Penelitian Pertanian Terapan. 13(1): 52-59

Suwastika, Anak Agung. 2016. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pertanian. Jurusan Agroekoteknologi fakultas Pertanian Universitas Udayana

Suwayvia, Nadya. 2017. Produksi Bakteriosin Asal *Lactobacillus Plantarum* Fncc 0020 Sebagai Antimikroba Dan Stabilitasnya Pada Variasi Suhu Pemanasan, Suhu Penyimpanan Dan pH. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Syahniar, TM. 2009. Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin asal *Lactobacillus plantarum* 1A5 serta Aktivitas Antimikrobanya terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Peternakan, IPB

Tortora, G.J., B.R. Funke, & C.L. Case. 2006. *Microbiology an Intoduction. 9th Edition*. Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings, San Fransisco.

Triwidyastuti, Yosefine. 2019. Pengendali Suhu Pada Proses Pasteurisasi Susu Dengan Temperature Control for Milk Pasteurization Utilizing the Proportional-Integral-Derivative (Pid) and Fuzzy Sugeno Method. *Jurnal Teknologi Informasi Dan Ilmu Komputer (JTIIK)* 6(4):355–62. doi: 10.25126/jtiik.201961068

Triyono, A. 2010. Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L.). Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, 1411-4216.

Tumbarski, Y., Yanakieva, V., Nikolova, R., Mineva, G., Deseva, I., Mihaylova, D., & Ivanov, I. (2018). Antifungal Effect of a Bacteriocin of *Bacillus methylotrophicus* BM47 and its Potential Application As A Biopreservative In Traditional Bulgarian Yogurt.*Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(1), 659–662. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.8.1.659-662

Usmiati S. Tri M. 2007. Seleksi Dan Optimasi Produksi Bakteriosin Dari Lactibacillus Sp. Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen *Pertanian.* Bogor

Usmiati, S. dan W. P. Rahayu. 2011. Aktivitas hambat bubuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. galur SCG 1223. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Puslitbangnak.

Utama, C. S., & Mulyanto, A. (2009). Potensi limbah pasar sayur menjadi starter fermentasi. *Jurnal Kesehatan*, *2*(1).

Utama, C. S., Zuprizal, Z., Hanim, C., & Wihandoyo, W. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, *7*(1).

Wala'a Shawkat Ali and Rashid M. Musleh. 2011. *Determination of Optimum Conditions for Plantaricin VGW8 Production by Lactobacillus plantarum VGW8.* Al-Mustansiriyah J. Sci. Vol. 22, No. 4

Wang, L., D. Fan, W. Chen, and E.M. Terentjev. 2015. Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. Sci. Rep., 5: 15159.

Widodo, *Et al*. 2019. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal: Isolasi Sampel Aplikasi Sebagai Probiotik Dan Starter Fermentasi Susu*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press

Widyasanti, A., Hajar, S., Rohdiana, D., Arief, D. Z., & Budiman, A. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak teh putih terhadap bakteri Gram positif dan negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, *18*(1), 55-60.

Wiryawan, K.G. & Tjaktradidjaja, A. S. 2001. Produksi Biopreservatif atau *feed supplement* (bakteriosin) dari Bakteri Asam Laktat. *Laporan Akhir*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Yelnetty A, Purnomo H, Purwadi, Mirah A. Biochemical Characteristics of Lactic Acid Bacteria with Proteolytic Activity and Capability as Starter Culture Isolated From Spontaneous Fermented Local Goat Milk. *Journal of Natural Sciences Research*. 2014; 4(10): 137-146.

Yulinery, Titin dan Novik Nurhidayat. 2013. Aktivitas antimikroba dan Analisis Gen Plantaricin F dari Isolat *Lactobacillus* asal Buah buahan Tropis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 11 (2): 147-155

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan

L.1.1 Pembuatan larutan NaOH 1N

$$M = \frac{n(mol)}{v(volume)}$$

$$M = \frac{m/Mr}{V}$$

$$1M = \frac{gram}{40}\ x\ \frac{1}{0{,}1\ L}$$

4 = gram dalam 100 ml

L.1.2 Pembuatan larutan $BaCl_2.2H_2O$ 0,1M (Mr = 244)

$$\text{Molaritas} = \frac{berat}{Mr\ x\ Volume}$$

$$0{,}1\ M = \frac{X\ gram}{244\ x\ 0{,}05}$$

X= 1,22 gram $BaCl_2.2H_2O$ dalam 50 ml aquades

L.1.2 Pembuatan Yeast Ekstrak

$$\%b/v = \frac{\text{berat zat terlarut}}{\text{Volume larutan}}\ x\ 100\%$$

$$3\% = \frac{\text{berat zat terlarut}}{100ml}\ x\ 100\%$$

Berat zat terlarut = 3 gram

L.1.3 Pembuatan Amonium Sulfat 80%

$$80\% = \frac{516}{1000}\ \text{x}\ 100$$

= 51,6 gram dalam 100 ml

Lampiran 2. Pembuatan Kurva Standar Protein

Pembuatan larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA) untuk kurva standar uji kadar protein menggunakan metode biuret.

L.2.1 Cara pembuatan larutan stok 2000 ppm

$$\frac{2000mg}{1000\ ml} = 2\ mg/ml$$

L.2.2 Pembuatan larutan kurva standar

- Konsentrasi 0,1 mg/ml

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 0,1

  V1 = 0,5 ml dalam 9,5ml aquades

- Konsentrasi 0,25 mg/ml

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 0,25

  V1 = 1,25 ml dalam 8,75 mL aquades

- Konsentrasi 0,5 ppm

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 0,5

  V1 = 2,5 ml dalam 7,5 mL aquades

- Konsentrasi 0,75 ppm

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 0,75

  V1 = 3,75 ml dalam 6,25 mL aquades

- Konsentrasi 1 ppm

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 1

  V1 = 5 ml dalam 5 mL aquades

- Konsentrasi 1,25 ppm

  VI x M1 = V2 x M2

  V1 x 2 = 10 x 1,25

  V1 = 6,25 ml dalam 3,75 mL aquades

- Konsentrasi 1,5 ppm

  VI x M1 = V2 x M2

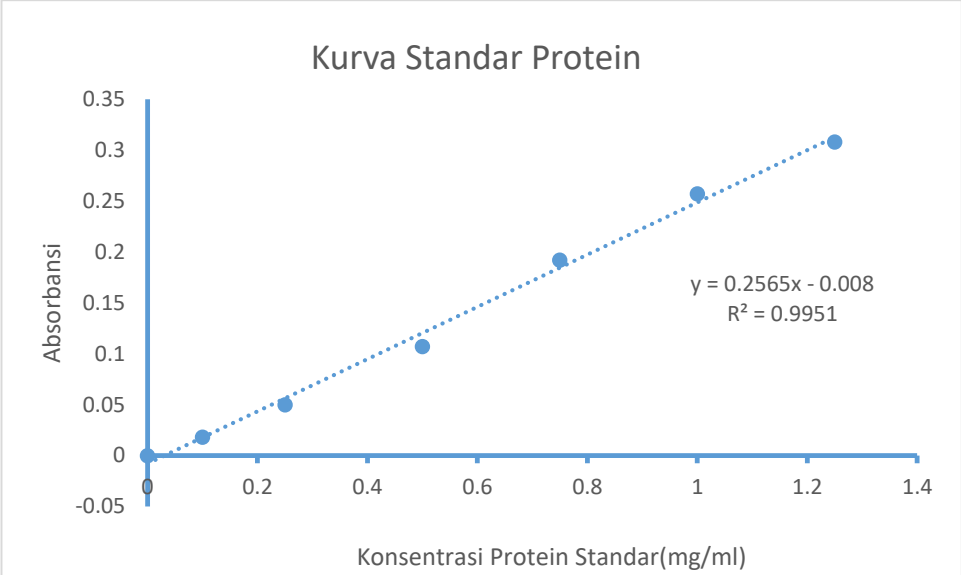
  V1 x 2 = 10 x 1, 5

  V1 = 7,5 ml dalam 2,5 mL aquades

L.2.3 Hasil pengukuran absorbansi BSA

Konsentrasi BSA (mg/ml)	Rata-Rata Absorbansi
0.1	0.018
0.25	0.05
0.5	0.107
0.75	0.192
1	0.257

1.25	0.308
1.5	0.367



L.2.4 Perhitungan konsentrasi protein bakteriosin

Konsentrasi protein bakteriosin atau X ditentukan dengan menggunakan persamaan linear dari kurva standar Larutan BSA sebagaimana berikut.

Misal : y = ax + b
y = 0,2565x - 0,008
1,34 = 0,2565x-0,008
x $= \frac{1,34+0,008}{0,2565}$
x = 5,255 mg/ml

L.2.5 Data Absorbansi dan konsentrasi protein

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi Protein (mg/ml)
Bakteriosin murni	1,34	5,255
Bakteriosin + Pepsin	0,429	1,075
Bakteriosin + Tripsin	0,286	1,147

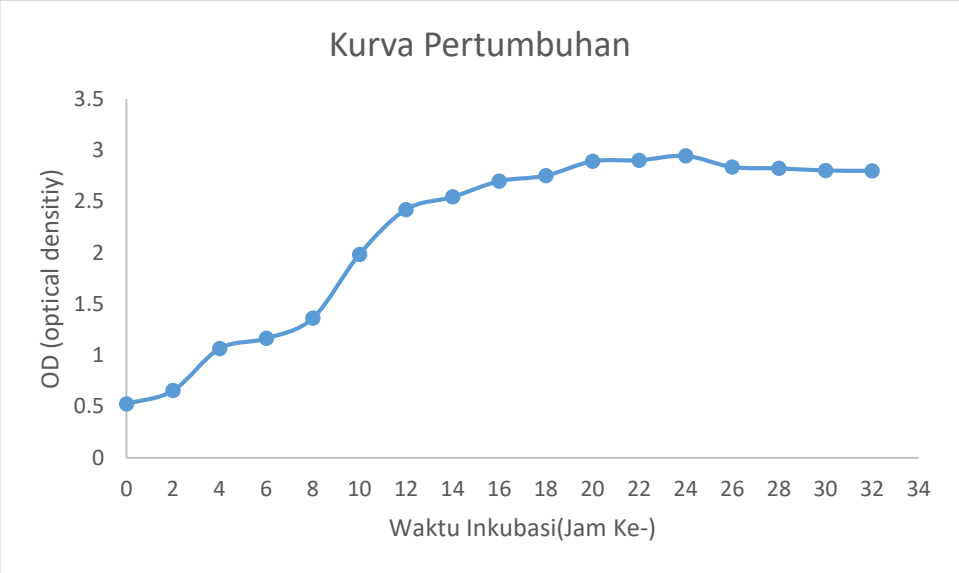
Lampiran 3. Pembuatan Kurva Perumbuhan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026

L.3.1 Hasil Pengukuran Absorbansi (OD) *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026

Jam ke-	Nilai OD
0	0.525
2	0.654
4	1.064

6	1.163
8	1.361
10	1.983
12	2.42
14	2.543
16	2.697
18	2.751
20	2.891
22	2.901
24	2.943
26	2.835
28	2.822
30	2.801
32	2.798

L.3.2 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026



Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Zona Hambat dan Penurunan Protein

L.4.1 Tabel Stabilitas Bakteriosin terhadap Variasi Suhu Pemanasan

Staphylococcus aureus				
perlakuan / ulangan	Ruang	65	80	100
1	6.36	6.63	5.86	4.32
2	6.39	7.01	5.91	4.18
3	6.69	7.97	6.16	4.08
4	6.67	4.64	4.82	5.71
5	6.46	4.92	5.68	5.47
6	7.04	8.12	4.97	5.15
rata-rata	6.601667	6.548333	5.566667	4.818333

Escherichia coli				
perlakuan / ulangan	Ruang	65	80	100
1	5.48	4.9	1.6	3.35
2	3.75	1.72	2.05	2.25
3	5.9	3.96	3.5	2.01
4	4.83	4.51	4.05	1.93
5	4.15	3.02	3.99	2.27
6	4.38	3.3	3.22	2.62
Rata-rata	4.748333	3.568333	3.068333	2.405

L.4.2 Tabel Stabilitas Bakteriosin terhadap pH

Staphylococcus aureus				
perlakuan / ulangan	2	4	6	8
1	15.25	11.12	4.23	6.48
2	22.38	6.83	4.04	4.58
3	19.88	5.89	1.93	3.79
4	19.33	4.25	3.85	1.82
5	16.57	4.07	5.89	1.99
6	16.24	4.87	4.35	2.83
Rata-rata	18.275	6.172	4.048	3.582

Escherichia coli				
perlakuan / ulangan	2	4	6	8
1	18.92	9.35	3.97	3.35
2	18.18	7.08	4.18	2.25
3	17.99	5.67	4.62	2.01
4	17.65	6.32	2.82	1.93
5	14.95	4.38	3.64	2.27
6	13.32	3.97	2.97	2.62
Rata-rata	16.835	6.128	3.700	2.405

L.4.3 Tabel Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Konsentrasi Protein (mg/ml)			
perlakuan / ulangan	Bakteriosin murni	bakteriosin+pepsin	bakteriosin+tripsin
1	5.267	1.848	0.846
2	6.086	1.708	1.548
3	4.413	1.559	1.049
4	5.254	1.804	0.915
5	4.351	1.676	1.436
6	6.161	1.635	1.091
rata-rata	5.255	1.705	1.147

Presentase Penurunan Protein = $\frac{\text{konsentrasi protein (awal}-\text{akhir)}}{\text{konsentrasi protein awal}} x\ 100\%$

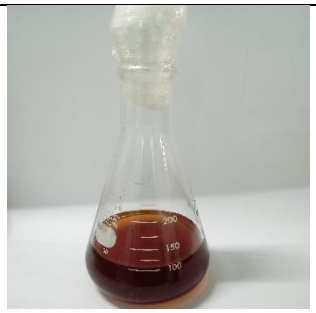
%bakteriosin+pepsin = $\frac{5{,}255-1{,}705}{5{,}255} x\ 100\%$

= 67,56%

%bakteriosin+pepsin = $\frac{5{,}255-1{,}147}{5{,}255} x\ 100\%$

= 78,18%

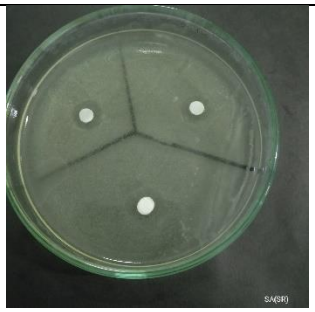
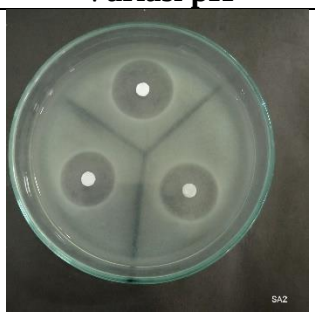
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

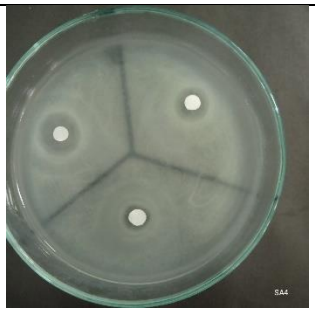
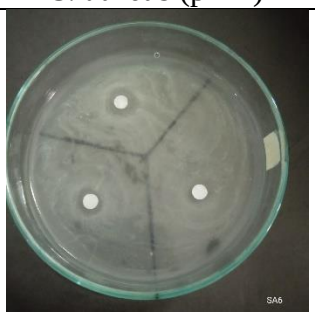
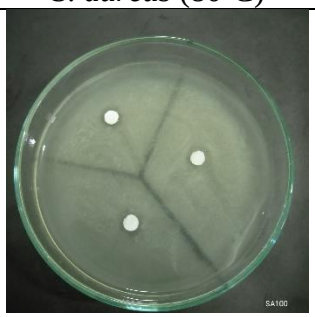
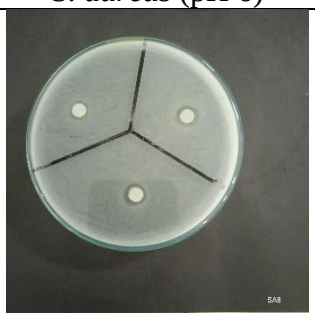
Pembuatan Media	Peremajaan *L.plantarum*	Pembuatan kurva Pertumbuhan
Inokulum *L.plantarum*	 Media produksi bakteriosin (MRSB+YE)	Produksi Bakteriosin
Bakteriosin Kasar	Sentrifugasi	Supernatan dan pelet

Penyaringan	Penetralan cfs	Purifikasi Amonium sulfat
Persipitat bakteriosin	Dialisis	Perlakuan suhu pemanasan
Perlakuan pH	Pengukuran Konsentrasi Protein	Pengukuran Zona Hambat

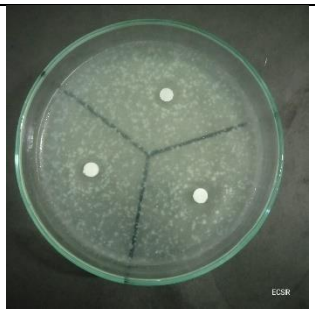
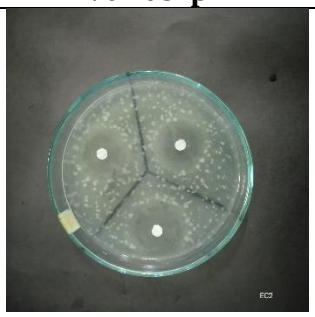
Lampiran 6. Aktivitas Bakteriosin terhadap Bakteri Uji

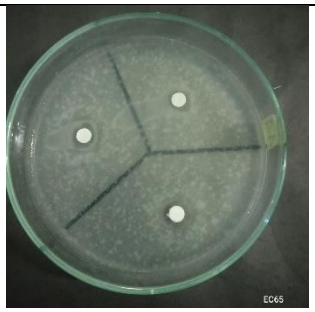
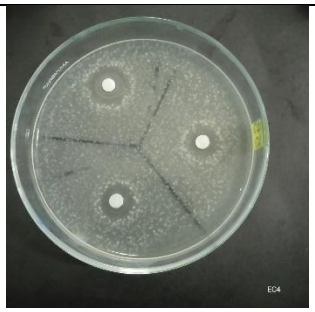
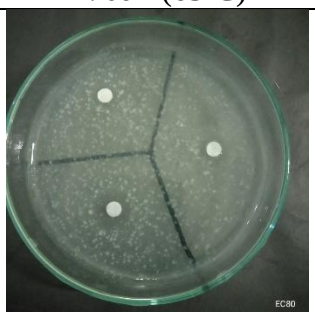
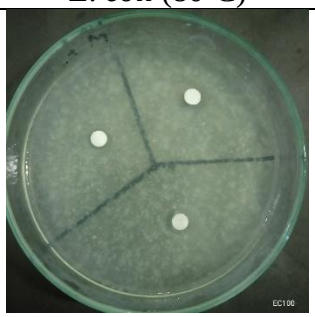
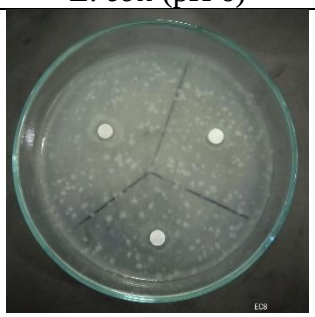
L. 6.1 *Staphylococcus aureus*

Variasi Suhu Pemanasan	Variasi pH
 *S. aureus* (suhu ruang (25°C))	 *S. aureus* (pH 2)

S. aureus (65°C)	 *S. aureus* (pH 4)
S. aureus (80°C)	 *S. aureus* (pH 6)
 *S. aureus* (100°C)	 *S. aureus* (pH 8)

L. 6.2 *Escherichia coli*

Variasi Suhu Pemanasan	Variasi pH
 *E. coli* (suhu ruang (25°C))	 *E. coli* (pH 2)

 *E. coli* (65°C)	 *E. coli* (pH 4)
 *E. coli* (80°C)	*E. coli* (pH 6)
 *E. coli* (100°C)	 *E. coli* (pH 8)

Lampiran 7. Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Diameter Zona Hambat Bakteriosin dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan

L.7.1 Perlakuan Variasi Suhu Pemanasan Bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus*

L.7.1.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona hambat
N		23
Normal Parameters[a,b]	Mean	5.9157
	Std. Deviation	1.12694
Most Extreme Differences	Absolute	.104
	Positive	.104
	Negative	-.088-
Test Statistic		.104
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200[c,d]

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

L.7.1.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona hambat	Based on Mean	2.867	3	19	.064
	Based on Median	1.490	3	19	.249
	Based on Median and with adjusted df	1.490	3	11.143	.271
	Based on trimmed mean	2.761	3	19	.070

L.7.1.3 Uji One Way Anova

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.831	3	3.610	4.009	.023
Within Groups	17.109	19	.900		

Total	27.940	22			

L.7.1.4 Uji Duncan

ZONA HAMBAT

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
SUHU	N	1	2
100	6	4.8183	
80	6	5.5667	5.5667
65	6		6.5483
ruang	6		6.6017
Sig.		.155	.066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

L.7.2 Perlakuan Variasi Suhu Pemanasan Bakteriosin terhadap *Escherichia coli*

L.7.2.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ZONA HAMBAT
N		24
Normal Parameters[a,b]	Mean	3.4475
	Std. Deviation	1.21876
Most Extreme Differences	Absolute	.125
	Positive	.125
	Negative	-.080-
Test Statistic		.125
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200[c,d]

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

L.7.2.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.

ZONA HAMBAT	Based on Mean	1.442	3	20	.260
	Based on Median	1.179	3	20	.343
	Based on Median and with adjusted df	1.179	3	17.163	.347
	Based on trimmed mean	1.421	3	20	.266

L.7.2.3 Uji One Way Anova

ANOVA

ZONA HAMBAT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.624	3	5.875	7.104	.002
Within Groups	16.540	20	.827		
Total	34.164	23			

L.7.2.4 Uji Duncan

ZONA HAMBAT

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
SUHU	N	1	2	3
100	6	2.4050		
80	6	3.0683	3.0683	
65	6		3.5683	
ruang	6			4.7483
Sig.		.221	.352	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

L.7.3 Perlakuan Variasi pH Bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus*

L.7.3.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		24
Normal Parameters[a,b]	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.72493350
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.076

	Negative	-.103-
Test Statistic		.103
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200[c,d]

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

L.7.3.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ZONA HAMBAT	Based on Mean	1.703	3	20	.199
	Based on Median	1.318	3	20	.296
	Based on Median and with adjusted df	1.318	3	13.471	.310
	Based on trimmed mean	1.587	3	20	.224

L.7.3.3 Uji One Way Anova

ANOVA

ZONA HAMBAT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	864.326	3	288.109	60.510	.000
Within Groups	95.227	20	4.761		
Total	959.552	23			

L.7.3.4 Uji Duncan

ZONA HAMBAT

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
pH	N	1	2
8	6	3.5817	
6	6	4.0483	
4	6	6.1717	
2	6		18.2750
Sig.		.065	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

L.7.4 Perlakuan Variasi pH Bakteriosin terhadap *Escherichia coli*

L.7.4.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		24
Normal Parameters[a,b]	Mean	.0000000
	Std. Deviation	2.91411777
Most Extreme Differences	Absolute	.116
	Positive	.069
	Negative	-.116-
Test Statistic		.116
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200[c,d]

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

L.7.4.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
zona hambat	Based on Mean	1.877	3	20	.166
	Based on Median	1.262	3	20	.314
	Based on Median and with adjusted df	1.262	3	14.518	.324
	Based on trimmed mean	1.828	3	20	.174

L.7.4.3 Uji One Way Anova

ANOVA

zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	775.234	3	258.411	109.651	.000

Within Groups	47.133	20	2.357		
Total	822.368	23			

L.7.4.4 Uji Duncan

zona hambat

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
pH	N	1	2	3
4	6	2.4050		
3	6	3.7000		
2	6		6.1283	
1	6			16.8350
Sig.		.160	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

L.7.5 konsentrasi protein dengan perlakuan enzim proteolitik

ANOVA

PROTEIN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.580	2	29.790	127.798	.000
Within Groups	3.497	15	.233		
Total	63.076	17			

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 : Mafrudhotin Nadzifah
NIM : 18620012
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2022/2023
Pembimbing : Ir.Hj. Liliek Harianie A.R., M. P
Judul Skripsi : Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 yang Diisolasi dari Asinan Sayur

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	19/01/2022	Konsultasi BAB I	
2.	31/01/2021	Revisi BAB I & Konsultasi BAB II,III	
3.	24/02/2022	Konsultasi BAB I,II,III (revisi ke-2)	
4.	11/03/2022	Pembimbingan (revisi ke-3) dan ACC proposal	
5.	17/7/2022	Pembimbingan BAB IV (konsultasi ke-1)	
6.	22/08/2022	Pembimbingan BAB IV (konsultasi ke-2)	
7.	25/08/2022	Pembimbingan BAB IV dan ACC naskah skripsi	

Malang, 25 Agustus 2022

Pembimbing Skripsi I

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

Ketua Program Studi,

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

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 : Mafrudhotin Nadzifah
NIM : 18620012
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2022/2023
Pembimbing : Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A
Judul Skripsi : Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 yang Diisolasi dari Asinan Sayur

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	03/12/2021	Konsultasi integrasi BAB I, II	
2.	06/12/2021	Konsultasi revisi proposal skripsi	
3.	16/12/2022	Konsultasi BAB I,II	
4.	17/12/2022	ACC proposal skripsi	
5.	02/08/2022	Konsultasi naskah skripsi BAB I-V	
6.	12/08/2022	Konsultasi revisi naskah skripsi BAB I-IV	
7.	18/08/2022	Konsultasi revisi naskah skripsi BAB I-V	
8.	25/08/2022	ACC naskah skripsi	
9.			

Malang, 25 Agustus 2022
Ketua Program Studi,

Pembimbing Skripsi II

Dr. M. Imamuddin, Lc., M.A
NIP. 19740602 200901 1 010

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

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

Form Checklist Plagiasi

Nama : **Mafrudhotin Nadzifah**

NIM : **18620012**

Judul : **Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 yang Diisolasi dari Asinan Sayur**

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Dr. Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD. Med. Sc		
5.	Tyas Nyonita Punjungsari, M. Sc	24 %	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

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