

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
BLONDO VIRGIN COCONUT OIL SERTA UJI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi***

SKRIPSI

**Oleh:
PRAMESTY WAHYUNING DWI PERTIWI
NIM. 18620007**



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

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
BLONDO VIRGIN COCONUT OIL SERTA UJI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi***

SKRIPSI

**Oleh :
PRAMESTY WAHYUNING DWI PERTIWI
NIM.18620007**

diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

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

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
BLONDO VIRGIN COCONUT OIL SERTA UJI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
PRAMESTY WAHYUNING DWI PERTIWI
NIM.18620007

telah diperiksa dan disetujui
tanggal: 9 November 2022

Dosen Pembimbing I

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

Dosen Pembimbing II

Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A
NIP. 19740602 200901 1 010



Mengetahui,
Ketua Program Studi

Dr. Erika Sardi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
BLONDO VIRGIN COCONUT OIL SERTA UJI ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:
PRAMESTY WAHYUNING DWI PERTIWI
NIM. 18620007

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 12 Desember 2022

Ketua Penguji : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si.
NIP. 19731005 200212 2 003
Anggota Penguji 1 : Fitriyah, S.Si., M.Si.
NIP. 19860725 201903 2 013
Anggota Penguji 2 : Ir. 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
Program Studi Biologi

Rina Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Puji syukur atas kehadiran Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan limpahan rahmat, berkah serta hidayah juga kekuatan dan kesabaran sehingga saya dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada bimbingan kita Nabi Muhammad *sallallahu 'alaihi wasallam* yang telah menjadi suri tauladan serta penunjuk jalan yang benar. Semoga Allah *subhanahu wa ta'ala* memberkahi ilmu yang telah saya dapatkan selama menimba ilmu di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Tulisan ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua, bapak Supriyadi dan ibu Suratini tercinta yang senantiasa mendo'akan segala yang terbaik untuk saya, memberikan kasih sayang serta dukungan moral dan material hingga saya dewasa.
2. Kakak saya Himawan Bayu Ekananta yang juga memberikan dukungan moral dan material serta memotivasi untuk tidak menyerah.
3. Seluruh Dosen Biologi yang telah mengajari dan membimbing saya selama kuliah di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Sepupu saya Febila, Rani, Devi serta teman saya Jihan, Gandhi, Astrid, Alfa yang selalu menemani saya ketika sedang penat
5. Sahabat-sahabat seperjuangan di Biologi angkatan 2018 UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, terutama kelas A yang begitu individu sehingga saya terbiasa mandiri.
6. Teman kos saya Intan, Ilvi, Heny, Widda dan Mimif yang selalu menemani dan memberikan dukungan.
7. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi atas bantuan dan kerjasamanya dalam melakukan penelitian serta tempat iseng ketika bosan melanda.

Akhir kata penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini bisa membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi
NIM : 18620007
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Blondo
Virgin Coconut Oil serta Uji Antibakteri terhadap Bakteri
Salmonella typhi

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, November 2022
Yang membuat pernyataan



Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi
NIM. 18620007

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Blondo Virgin Coconut Oil Serta Uji Antibakteri Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi, Liliek Harianie, M. Imamudin

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

ABSTRAK

Blondo merupakan limbah proses pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan aroma menyengat serta bau tidak sedap yang dapat mencemari lingkungan. Blondo mengandung karbohidrat dan protein, lemak, mineral serta asam laurat dan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat menghasilkan salah satu senyawa antibakteri berupa bakteriosin, yang dapat dikembangkan untuk mengatasi kasus infeksi demam tifoid oleh bakteri *Salmonella typhi*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari bakteriosin hasil isolasi bakteri asam laktat dari blondo VCO dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, serta menentukan konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi yang digunakan yakni 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Data diuji statistika menggunakan Software SPSS versi 25, kemudian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) *one way*. Apabila analisa menunjukkan perbedaan yang signifikan (berbeda nyata), maka dilanjutkan uji lanjut menggunakan metode *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Penelitian diawali dengan isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat berupa uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospore, uji katalase dan uji produksi gas. Hasil isolasi menunjukkan 8 isolat diduga bakteri asam laktat dimana 6 isolat bergenus *Lactobacillus* dan 2 isolat bergenus *Streptococcus*. Isolat yang didapat digunakan untuk produksi bakteriosin dan uji aktivitas antibakteri serta menentukan konsentrasi KHM dan KBM. Bakteriosin *Lactobacillus* dan *Streptococcus* dapat menghambat *Salmonella typhi* dengan luas zona hambat terbesar berukuran 5,88 mm dan 7 mm dengan kategori sedang. Untuk hasil KHM berada di konsentrasi 10% dan tidak ditemukan KBM.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, blondo, VCO, bakteriosin dan *Salmonella typhi*

Isolation And Characterization of Lactic Acid Bacteria from Blondo Virgin Coconut Oil and Antibacteria Test Against *Salmonella Typhi*

Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi, Liliek Harianie, M. Imamudin

Biology Department, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Blondo is a waste from the process of making *Virgin Coconut Oil (VCO)* with a pungent aroma and unpleasant odor that can pollute the environment. Blondo contains carbohydrates and proteins, fats, minerals as well as lauric acid and lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria produce one of the antibacterial compounds in the form of bacteriocin, which can be developed to treat cases of typhoid fever infection by *Salmonella typhi*. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of bacteriocin isolated from lactic acid bacteria from Blondo VCO in inhibiting the growth of *Salmonella typhi* bacteria, and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The concentrations used were 0%, 2%, 4%, 6%, 8% and 10%. The data were statistically tested using SPSS software version 25, then analyzed using (*Analysis of Variance*) *one-way*. If the analysis shows a significant difference, then proceed with further testing using the *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* method. The study began with the isolation and characterization of lactic acid bacteria in the form of Gram stain test, endospore staining, catalase test and gas production test. The results of the isolation showed that 8 isolates were suspected to be lactic acid bacteria, of which 6 were *Lactobacillus* and 2 were *Streptococcus*. The isolates obtained were used for the production of bacteriocin and assay for antibacterial activity and to determine the concentration of MIC and MBC. Bacteriocins *Lactobacillus* and *Streptococcus* can inhibit *Salmonella typhi* with the largest inhibitory zone measuring 5.88 mm and 7 mm in the medium category. The MIC results were at 10% concentration and there was no MBC found.

Keywords: *Lactic acid bacteria, Blondo, VCO, bacteriocin and Salmonella typhi*

عزل وتوصيف بكتيريا حمض اللاكتيك من *Virgin Coconut Oil* (VCO) Blanco واختبار مضاد

للجراثيم ضد بكتيريا *Salmonella typhi*

برامستي واهيونينغ دوي برتيوي، ليليك هارياني، محمد إمام الدين

برنامج دراسة علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانغ

الملخص

Blondo هو نفايات من عملية صنع زيت جوز الهند البكر VCO برائحة نفاذة ورائحة كريهة يمكن أن تلوث البيئة. يحتوي بلونديو على الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والمعادن وكذلك حمض اللوريك وبكتيريا حمض اللاكتيك. تنتج بكتيريا حمض اللاكتيك أحد المركبات المضادة للبكتيريا على شكل جرثومي ، والذي يمكن تطويره للتغلب على حالات عدوى حمى التيفوئيد ببكتيريا السالمونيلا التيفية. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للبكتيريا المعزول من بكتيريا حمض اللاكتيك من Blanco VCO في تثبيط نمو بكتيريا *Salmonella typhi* ، وتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط KBM والحد الأدنى لتركيز القتل KHM كانت التركيزات المستخدمة 0% ، 2% ، 4% ، 6% ، 8% و 10%. تم اختبار البيانات إحصائيًا باستخدام الإصدار 25 من برنامج SPSS ، ثم تم تحليلها باستخدام ANOVA. إذا أظهر التحليل اختلافًا كبيرًا مختلفًا بشكل كبير ، فتابع إجراء المزيد من الاختبارات باستخدام طريقة *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) بدأت الدراسة بعزل وتوصيف بكتيريا حمض اللاكتيك في صورة اختبار صبغة جرام ، وتلطيف داخلي ، واختبار الكاتالاز ، واختبار إنتاج الغاز. أظهرت نتائج العزل أن 8 عزلات اشتهت في كونها بكتيريا حمض اللاكتيك ، 6 منها من بكتيريا *Lactobacillus* و 2 من *Streptococcus*. تم استخدام العزلات التي تم الحصول عليها لإنتاج البكتريوسين والنشاط المضاد للبكتيريا وكذلك تحديد تركيز KHM و KBM. بكتريوسين *Lactobacillus* و *Streptococcus* يمكن أن تمنع *Salmonella typhi* بأكثر منطقة مثبطة تبلغ 5.88 مم و 7 مم في الفئة المتوسطة. كانت نتائج KHM بتركيز 10% ولم يتم العثور على KBM.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، Blanco ، VCO ، البكتريوسين ، *Salmonella typhi*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji bagi Allah SWT tuhan semesta alam yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan umat Nabi besar Muhammad SAW yang telah mengarahkan manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang, yakni agama Islam. Penulis sangat bersyukur dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil serta Uji Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella typhi*” dengan baik.

Selanjutnya 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. H. M. Imamudin, Lc., M.A. selaku 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. Ruri Siti Resmisari, M.Si. selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Kedua orang tua dan kakak kandung penulis, yang senantiasa memberikan dukungan, baik doa, semangat, maupun finansial.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2018 maupun teman-teman kelas Biologi A yang senantiasa memberikan dukungan serta motivasi.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Mereka yang telah membantu dalam doa, dukungan, sumbangan pemikiran, semangat, dan lain sebagainya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 28 Oktober 2022

Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
المخلص.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Akademis.....	7
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Blondo VCO	9
2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL).....	14
2.2.1 Lactobacillus	17
2.2.2 Pediococcus	17
2.2.3 Streptococcus	17
2.2.4 Leuconostoc	18
2.3 Karakteristik Bakteri Asam Laktat	18
2.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)	20
2.5 Bakteriosin	21
2.5.1 Klasifikasi Bakteriosin.....	22
2.5.2 Produksi Bakteriosin.....	24
2.5.3 Mekanisme Kerja Bakteriosin	25
2.5.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri	27
2.6 <i>Salmonella typhi</i>	29
2.6.1 Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	29
2.6.2 Karakteristik <i>Salmonella typhi</i>	29
2.6.3 Patogenitas <i>Salmonella typhi</i>	30
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	31
2.7.1 Metode Dilusi	31
2.7.2 Metode Difusi	32

BAB III METODE PENELITIAN	34
3.1 Rancangan Penelitian.....	34
3.2 Waktu dan Tempat.....	34
3.3 Variabel Penelitian.....	35
3.3.1 Variabel Bebas.....	35
3.3.2 Variabel Terikat.....	35
3.3.3 Variabel Kontrol.....	35
3.4 Alat dan Bahan.....	35
3.4.1 Alat.....	35
3.4.2 Bahan.....	35
3.5 Prosedur Penelitian.....	36
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	36
3.5.2 Pengambilan Sampel.....	36
3.5.3 Pembuatan Media.....	36
3.5.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat.....	37
3.5.5 Karakteristik Bakteri Asam Laktat.....	38
3.5.6 Produksi Bakteriosin.....	40
3.5.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	41
3.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri.....	41
3.5.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Bunuh Minimum.....	42
3.5.10 Analisis Data.....	43
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 44
4.1 Karakteristik Genus BAL dari blondo VCO.....	44
4.1.1 Pengamatan Makroskopis.....	44
4.1.2 Pengamatan Mikroskopis.....	45
4.2 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteriosin terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	53
4.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Blondo terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	58
4.4 Kajian Integrasi Islam mengenai Aktivitas Antibakteri Bakteriosin Blondo VCO terhadap <i>Salmonella typhi</i>	62
 BAB V PENUTUP.....	 66
5.1 Kesimpulan.....	66
5.2 Saran.....	66
 DAFTAR PUSTAKA	 67
LAMPIRAN.....	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Pengamatan Mikroskopis Koloni Bakteri Blondo VCO.....	45
4.2 Pengamatan Mikroskopis Koloni Bakteri Blondo VCO.....	45
4.3 Zona Hambat Bakteriosin isolat AA terhadap <i>Salmonella typhi</i>	54
4.4 Zona Hambat Bakteriosin isolat BB terhadap <i>Salmonella typhi</i>	54
4.5 KHM Bakteriosin terhadap <i>Salmonella typhi</i>	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Salmonella typhi</i>	29
4.1 Pewarnaan Gram	47
4.2 Pewarnaan Endospora	49
4.3 Uji Katalase	50
4.4 Uji Pembentukan Gas	51
4.5 Uji Zona Hambat	53
4.6 Uji KHM dan KBM	59

DAFTAR LAMPIRAN

1. Konsentrasi Larutan Bakteriosin.....	77
2. Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap <i>Salmonella typhi</i>	78
3. Hasil Uji KHM dan KBM Bakteriosin terhadap <i>Salmonella typhi</i>	79
4. Uji Anova dan Uji Lanjut Ducan Antibakteri Bakteriosin Isolat AA terhadap <i>Salmonella typhi</i>	80
5. Uji Anova dan Uji Lanjut Ducan Antibakteri Bakteriosin Isolat BB terhadap <i>Salmonella typhi</i>	81
6. Dokumentasi Penelitian	82
7. Dokumentasi Hasil Karakteristik BAL dari Blondo VCO	85
8. Dokumentasi Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap <i>Salmonella typhi</i>	98
9. Dokumentasi Hasil Uji KHM dan KBM terhadap <i>Salmonella</i> <i>typhi</i>	100
10. Komposisi Media	101
11. Kartu Konsultasi Pembimbing I.....	102
12. Kartu Konsultasi Pembimbing II	103
13. Bukti Checklist Plagiasi	104

DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
VCO	<i>Virgin Coconut Oil</i>
CaCO ₃	Kalsium karbonat
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
NaCl	Natrium clorida
gr	gram
BAL	bakteri asam laktat
MRSA	<i>de Mann Rogosa Sharpe Agar</i>
MRSB	de Mann Rogosa Sharpe Broth
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
°C	derajat Celcius rpm rotation per minut
pH	power of Hydrogen

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cemaran mikroba pada bahan pangan merupakan hasil kontaminasi langsung atau tidak langsung dengan sumber-sumber pencemar, seperti tanah, udara, air, debu, saluran pencernaan dan pernafasan manusia maupun hewan. Bakteri patogen yang mencemari pangan akan menyebabkan berbagai penyakit seperti sakit perut, keram perut, muntah, diare, demam, dan tipus yang sering juga disebut *food borne disease*. Kasus *food borne disease* yang sering muncul adalah demam tifoid yang merupakan infeksi usus akut yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* (Amiruddin dkk, 2017).

Bakteri genus *Salmonella* merupakan bakteri patogen yang menjadi indikator bahwa makanan tersebut kualitasnya sudah menurun dan apabila tertelan mengakibatkan penyakit saluran pencernaan. Bakteri ini dapat menyebar melalui alat pengolahan yang digunakan kurang higiene dan waktu penyimpanan yang terlalu lama. Bahan makanan mengandung *Salmonella typhi* dalam jumlah besar akan menimbulkan perubahan warna dan bau. Semakin tinggi jumlah bakteri *Salmonella typhi* di dalam suatu makanan, maka semakin besar timbulnya gejala infeksi pada orang yang menelan makanan tersebut (Apriani dkk., 2019).

Bahan alami dikembangkan kembali sebagai upaya penanggulangan akibat bakteri patogen, salah satunya pemanfaatan dari limbah. Allah menciptakan manusia dengan akal dan fikiran agar mempelajari segala sesuatu yang dicitakan Allah SWT tidak ada yang sia-sia, dengan dasarnya dari Al-Qur'an. Manusia yang

mempelajari segala ciptaan Allah akan mendapatkan nikmat. Allah SWT berfirman dalam QS: Ali-Imran [3]: 191, yaitu;

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ
رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

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

Shihab (2002) dalam kitab Al-Mishbah menerangkan bahwa Ulul Albab dijabarkan sebagai manusia dengan yang segala tindakan dan keadaan apapun tetap mengingat Allah. Makna dari رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا, bahwa manusia diciptakan untuk memikirkan tentang sistem kerja langit dan bumi dan menyimpulkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia, tanpa tujuan. Salah satu penciptaan Allah yaitu bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme dengan beberapa manfaat dan kerugian. Salah satunya bakteri asam laktat (BAL) yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen.

BAL umumnya dimanfaatkan sebagai kultur starter dalam fermentasi makanan, karena mampu meningkatkan kualitas, lama masa simpan, keamanan, kandungan nutrisi serta rasa secara keseluruhan dari produk makanan tersebut (Kulla & Retnaningrum, 2019). Salah satu peran BAL dalam industri pangan adalah dapat berfungsi sebagai pengawet (Šušćović *et al.*, 2010), yang dapat menjadi alternatif baru dalam penggunaan bahan pengawet makanan dimana kebanyakan masih menggunakan bahan pengawet kimia yang berisiko terhadap kesehatan.

Menurut Nurraifah dkk (2021), penggunaan pengawet kimia secara berlebihan berbahaya bagi kesehatan dan menumpuk residu tubuh, sehingga memicu timbulnya bermacam-macam penyakit termasuk kanker. Penggunaan bahan pengawet alami (biopreservatif) untuk pengawetan pangan dapat menjadi solusi untuk mengatasi masalah tersebut, yaitu bahan pengawet yang secara alami dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen. Bahan pengawet tersebut salah satunya didapat dengan memanfaatkan BAL.

BAL dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengawet makanan karena memiliki kemampuan untuk memproduksi zat antibakteri yang bisa mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Jenis zat antibakteri yang diproduksi oleh BAL diantaranya hidrogen peroksida, diasetil, asam organik, dan bakteriosin, yakni protein dengan sifat antibakteri (Šuško^ć *et al.*, 2010). Asam laktat dan hidrogen peroksida merupakan senyawa antagonis yang menunjukkan aktivitas bakterisida bagi mikroorganisme pembusuk makanan (Meziane *et al.*, 2011). Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL memiliki sifat sebagai antibakteri. Semakin tinggi tingkat asam laktat yang dihasilkan, semakin kuat kemampuannya dalam menekan bakteri indikator, namun pH yang asam perlu dipertimbangkan lebih lanjut dalam pengaplikasiannya. Sedangkan hidrogen peroksida dan diasetil membutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk antibakteri yang efektif (Sulistiani, 2017).

Bakteriosin yang diproduksi BAL merupakan salah satu zat antimikrobia yang dapat digunakan sebagai pengawet makanan (Kasi dkk., 2017). Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain yang memiliki kekerabatan erat secara filogenetik (Urnemi dkk., 2011). Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam

laktat diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk makanan dan bakteri patogen pada makanan penyebab *foodborne disease* (kontaminasi makanan akibat bakteri). Penambahan bakteriosin dalam makanan selain untuk mencegah terjadinya pembusukan, juga berguna untuk memperpanjang waktu penyimpanan (Fadila dkk., 2022).

Keunggulan bakteriosin yaitu memiliki sifat tidak toksik dan mudah mengalami biodegradasi karena bakteriosin adalah senyawa protein yang tidak membahayakan mikroflora usus, mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan, dan aman bagi lingkungan (Andarilla dkk., 2018). Pemanfaatan bakteriosin dalam industri makanan mampu meminimalisir penggunaan pengawet kimia, juga perlakuan panas intensif. Selain itu, bakteriosin dari BAL juga dikatakan sangat menarik karena termasuk bahan tambahan pangan yang tidak beracun dan aman dalam mengawetkan makanan serta mampu mencegah pembusukan makanan oleh bakteri patogen (Kusmarwati dkk, 2014).

Minyak Kelapa Murni atau *Virgin Coconut Oil* (VCO) merupakan minyak yang diproses secara alami tanpa menggunakan energi panas, sehingga tidak menyebabkan perubahan kandungan pada minyak (Mela & Bintang, 2021). Pengolahan VCO menghasilkan limbah berupa air dan blondo. Blondo yang dihasilkan mengandung BAL. BAL telah lama diketahui memiliki kemampuan melawan bakteri patogen atau disebut antibakteri. Sebagaimana sabda Rasulullah SAW, yaitu;

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya” (H.R. Al-Bukhari dari Abu Hurairah r.a No. 5678).

VCO mengandung asam-asam lemak jenuh diantaranya *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) dan *Medium Chain Trygliserida* (MCT). MCFA yang berupa asam laurat mempunyai sifat antivirus, antibakteri, antiprotozoal. VCO juga mengandung MCT yang dapat meningkatkan imunitas terhadap penyakit dan mempercepat penyembuhan dari sakit, serta mencegah terjadinya obesitas. Selain asam lemak jenuh, beberapa komponen kimia lain yang telah diketahui terkandung dalam VCO adalah sterol, vitamin E, fraksi polifenol (asam fenolat), tokoferol dan betakaroten. Komponen kimia tersebut dilaporkan mempunyai aktifitas antioksidan (Maromon, 2020). Asam laurat didalam tubuh akan diubah menjadi monolaurin yaitu sebuah senyawa monogliserida yang bersifat antibiotik. Asam lemak rantai sedang dan turunannya (asam laurat dan monolaurin) memiliki kemampuan menghancurkan bakteri yang memiliki selubung lipid dengan mengdisintegrasikan membran lipidnya (Noriko dkk., 2014).

Blondo merupakan hasil samping dari pengolahan minyak kelapa murni atau biasa disebut VCO. Blondo mempunyai karakteristik warna putih dan protein yang berbentuk cream dan sangat sering disebut inti santan yang memiliki bentuk cairan (Haerani, 2010). Menurut (Murtius, 2008) komposisi blondo dari pembuatan minyak dengan cara fermentasi terdiri dari 31,35% protein kasar sebesar, 0,52% serat kasar, dan 22,32% lemak kasar, blondo mempunyai kandungan asam lemak esensial seperti linolenat, teridentifikasi mengandung *Lactobacillus* sp., asam oleat dan linoleat. memiliki total koloni BAL $3,5 \times 10^9$. Penelitian Rasyid dkk. (2021) menyatakan bahwa bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari sampel blondo yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Streptococcus* sp..

Pengolahan VCO menghasilkan rendemen minyak kelapa sebesar 15,58% sedangkan rendemen blondo sebesar 18,31% (Wijana dkk., 2018). Aroma menyengat dari tingginya kandungan protein pada blondo yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai media tumbuh (Febri, 2022). Limbah blondo jika tidak dikelola dengan baik dan hanya langsung dibuang diperairan akan mengganggu lingkungan disekitarnya. Kadar asam yang tinggi pada limbah VCO akan berakibat timbulnya penyakit, meninggalkan bau yang tidak sedap dan terjadi ketidakseimbangan ekosistem yang disebabkan kadar asam akan membunuh tumbuhan dan hewan-hewan yang hidup disekitar (Kusumawati, 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteriosin dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari BAL yang diisolasi dari limbah blondo VCO sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini digunakan sebagai salah satu indikator, karena bakteri tersebut sering mencemari makanan dan air sehingga menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apa saja genus bakteri asam laktat yang terdapat di dalam blondo VCO?
2. Bagaimana aktivitas bakteriosin yang di isolasi dari blondo VCO terhadap bakteri *Salmonella typhi*?
3. Berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bakteriosin terhadap bakteri *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui potensi genus bakteri asam laktat yang terdapat di dalam blondo VCO.
2. Untuk mengetahui aktivitas bakteriosin yang di isolasi dari blondo VCO terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
3. Untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bakteriosin terhadap bakteri *Salmonella typhi*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Manfaat akademis dari penelitian ini adalah sebagai referensi tambahan pada ilmu mikrobiologi khususnya pada potensi antibakteri bakteriosin blondo VCO terhadap *Salmonella typhi*.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Manfaat secara aplikatif yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu dapat digunakan sebagai sumber informasi dan referensi bagi dunia industri dalam pengembangan pengawet makanan yang berasal dari bakteriosin terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi*.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Isolasi asam laktat diambil dari blondo VCO industri Sarilam VCO, Singosari di Kabupaten Malang.
2. Isolasi bakteri dilakukan dengan pengenceran bertingkat yang diinokulasikan dalam MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) secara pour plat.

3. Teknik karakterisasi dilakukan beberapa uji diantaranya makroskopis berupa pengamatan karakter morfologi sel bakteri, dan mikroskopis berupa uji yaitu pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, pengujian katalase, dan pengujian produksi gas.
4. Karakterisasi BAL mengacu panduan buku *Bergey's 1994*
5. Bakteriosin yang diuji pada penelitian ini berupa ekstrak kasar bakteriosin.
6. Bakteri indikator berupa isolat *Salmonella typhi* yang didapatkan dari stok kultur Universitas Brawijaya Malang.
7. Parameter yang diamati yaitu uji antibakteri, uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).
8. Uji yang dilakukan secara in vitro.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Blondo VCO

Bakteri merupakan makhluk hidup yang terbagi atas sangat banyak spesies. Bakteri yang umumnya dapat bersifat merugikan juga ternyata memiliki sifat yang menguntungkan bagi kehidupan manusia. Bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri berupa golongan Bakteri Asam Laktat (BAL). Kekayaan alam yang telah Allah ciptakan yang seharusnya dapat dimanfaatkan bagi kemaslahatan manusia, sebagaimana firman Allah dalam QS: Al-Hijr [15]: 19-20:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَا هَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا
لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya : *"Dan Kami telah menghamparkan bumi dan Kami pancangkan padanya gunung-gunung serta Kami tumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan padanya sumber-sumber kehidupan untuk keperluanmu, dan (Kami ciptakan pula) makhluk-makhluk yang bukan kamu pemberi rezekinya."* Terjemah Kemenag 2002.

Ayat di atas menjelaskan bahwa semua kekayaan alam yang ada di bumi diciptakan Allah untuk kemaslahatan hidup manusia. Karena sesungguhnya yang ada di alam baik yang hidup maupun yang mati, yang kecil maupun yang besar sudah pasti memiliki manfaat masing-masing dan telah dijelaskan bahwa di bumi ini Allah telah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang mengandung berbagai manfaat. Semua tumbuhan mempunyai hikmah dan maslahat walaupun itu tidak diketahui oleh banyak manusia (Ash-Shiddieqy, 2000).

Tanaman yang dengan segudang manfaat untuk kemaslahatan manusia yaitu Pohon kelapa (*Cocos nucifera* L.). Pohon kelapa dapat diolah seluruh bagiannya.

Salah satu pemanfaatannya yaitu buah kelapa tua yang diambil dagingnya untuk dihasilkan santan. Santan yang telah dihasilkan akan diproses menjadi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan hasil samping proses berupa limbah blondo. Blondo memiliki kandungan protein, mineral dan energi yang cukup tinggi. Blondo juga mengandung asam lemak tak jenuh rantai sedang dan ditemukan beberapa BAL, diantaranya yaitu *Lactobacillus*, *Lactococcus* dan *Streptococcus*. Allah SWT telah menciptakan asam organik yang kaya sehingga BAL dapat tumbuh dan dapat diambil manfaat bagi kelangsungan hidup manusia dan makhluk ciptaan Allah lainnya.

Virgin coconut oil (VCO) merupakan minyak kelapa murni yang dibuat dengan fermentasi santan tanpa penambahan mikroba, yang dinamakan juga dengan secara tradisional, hanya dengan memanfaatkan mikroba alami. VCO berwarna jernih dan mempunyai aroma kelapa yang khas. Sangat berbeda dengan minyak kelapa biasa, yang dibuat dengan memanaskan santan kelapa. Berwarna kuning keemasan, dan ada kalanya berbau agak tengik. VCO mengandung antioksidan yang tinggi dan *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA), diantaranya asam laurat. Asam laurat didalam tubuh akan dirubah menjadi monolaurin agar lebih berfungsi dalam menjaga kesehatan manusia (Suryani, 2020).

Monolaurin yang terkandung pada VCO mempunyai efek antibakteri yang dapat membunuh bakteri secara selektif. Bakteri yang diperlukan tubuh dan berada dalam usus tidak terpengaruh dengan efek antibakteri tersebut, namun sebaliknya untuk bakteri patogen (yang menyebabkan penyakit) mendapatkan dampak dari efek antibakteri yang dihasilkan oleh monolaurin. Asam laurat dari VCO memiliki aktivitas antibakteri terbesar dibandingkan semua asam lemak rantai menengah.

Efek antibakteri dari asam lemak ini akan semakin meningkat jika asam lemak tersebut diesterifikasi sehingga terbentuk monolaurin. Monolaurin bekerja efektif terhadap bakteri patogen Gram positif dan bakteri yang berperan dalam proses pembusukan. Namun, aktivitas antibakteri dari asam lemak ini akan semakin meningkat jika dikombinasikan dengan zat lain (Armita, 2014).

Mekanisme kerja asam laurat dengan merusak lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri. Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptida yang menggabungkan antara rantai glikan dari peptidoglikan sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Jika ada hambatan dalam pembentukannya, maka sel bakteri akan mengalami lisis yang kemudian diikuti dengan kematian sel. Asam laurat bekerja dengan merusak rantai peptida yang menyusun peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri menjadi lemah dan mengalami lisis. Tanpa dinding sel bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mengalami kematian (Maromon dkk., 2020). Zat yang dapat digunakan untuk meningkatkan efektivitas dari VCO yaitu zat yang dihasilkan oleh BAL. BAL merupakan bakteri yang menghasilkan asam-asam terutama asam laktat, dan bakteriosin. Selain itu juga berbagai macam produk fermentasi seperti asam asetat, etanol, karbondioksida, peroksida dan, yang merupakan peptida berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan tidak berbahaya bagi bakteri non patogen (Armita, 2014).

Santan kelapa yang mengandung karbohidrat tinggi yang digunakan BAL untuk proses fermentasi. *Virgin Coconut Oil* fermentasi dilakukan dengan memproses daging kelapa segar menjadi santan, lalu santan difermentasi semalam, sehingga terbentuk VCO. Mikroba yang digunakan adalah mikroba yang ada di

udara. Menurut ilmu biokimianya, mikroba akan tumbuh pada media yang cocok. Santan adalah media yang cocok untuk bakteri yang dapat memutus ikatan antara protein, minyak dan air, yang merupakan emulsi pada santan. Secara ilmu biokimia, ikatan kimia pada protein akan putus bila ada kondisi asam, atau protein akan terdenaturasi dengan adanya asam. Sehingga minyak akan keluar (Suryani, 2020).

Santan kelapa mengandung 54% air, 35% lemak dan 11% padatan non lemak. BAL akan memanfaatkan oligosakarida dan protein untuk perkembangan sehingga menghasilkan asam laktat dan metabolit-metabolit lainnya. BAL secara umum terbukti mampu menginduksi proses pemisahan minyak dan air dari santan kelapa. Kondisi ekstraksi tanpa melibatkan panas dan mekanis pada proses fermentasi VCO BAL dianggap memiliki banyak keuntungan seperti kadar bilangan penyabunan, bilangan peroksida, dan asam lemak bebas yang rendah, dan sifat antibakteri yang diklaim lebih tinggi (Khotimah dkk., 2018).

Sarkono dan Julisaniah (2010) menyebutkan *Lactobacillus bulgaricus* yang digunakan sebagai starter pembuatann VCO dapat terdispersi kedalam 3 lapisan hasil fermentasi dengan jumlah bervariasi. Lapisan yang paling banyak mengandung BAL yaitu lapisan blondo sebesar 2.95×10^{13} sel/ml. Lapisan blondo mengandung banyak protein yang berasal dari emulsi santan, selain itu juga mengandung karbohidrat. Degradasi karbohidrat dan protein menyebabkan molekul minyak yang dikelilingi molekul karbohidrat dan protein dalam krim santan menjadi bebas dan terbentuklah minyak VCO.

Blondo merupakan limbah proses pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang tidak mengalami pengolahan lebih lanjut. Limbah hasil pengolahan kebanyakan dibuang langsung tanpa adanya pengolahan atau beberapa

dimanfaatkan sebagai pangan ternak. Limbah blondo mengandung nutrisi yang tinggi diantaranya karbohidrat dan protein, lemak, mineral serta asam lemak esensial (asam oleat, linoleat, linolenat) serta bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memanfaatkan faktor-faktor seperti karbohidrat serta kondisi lingkungan yang sesuai untuk tumbuh (Rasyid dkk., 2021).

Kandungan kalsium pada blondo dapat dioptimalkan dengan mereduksi kandungan air dan lemaknya. Selain itu konsentrat protein kelapa (blondo) juga memiliki kandungan bakteri yang menguntungkan, yaitu bakteri asam laktat. Bakteri yang banyak ditemukan pada konsentrat protein kelapa (blondo) *Lactobacillus* sp. dan *Streptococcus* sp. yang berperan dalam fermentasi susu (Afrizal dkk., 2020). Martinelly dkk. (2011) menyatakan bahwa blondo memiliki kandungan protein, mineral dan energi yang cukup tinggi. Blondo juga mengandung asam lemak tak jenuh rantai sedang, antara lain asam oleat (omega-9), asam linoleat (omega-6) dan linolenat (omega-3). Pada blondo basah terdapat BAL berupa *Lactobacillus* dapat berfungsi sebagai probiotik yang diolah sebagai tambahan pakan ternak untuk memelihara kesehatan dan meningkatkan daya tahan tubuh ayam.

Hasil penelitian Murtius (2008), komposisi blondo dari pembuatan minyak dengan cara fermentasi terdiri dari protein kasar sebesar 31,35%, serat kasar 0,52%, dan lemak kasar 22,32%, juga mengandung asam-asam lemak esensial seperti asam oleat, linoleat, linolenat, dan teridentifikasi mengandung *Lactobacillus* sp. dengan total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) $3,5 \times 10^9$. Temuan ini mendukung hasil penelitian dari Murni (2006) yang menyatakan bahwa dalam blondo teridentifikasi *Lactobacillus* sp. dengan total koloni BAL

$5,2 \times 10^9$, sebagai indikasi bahwa blondo dapat digunakan sebagai sumber probiotik.

Penelitian Husmaini (2012) menyatakan bahwa dalam BAL yang diisolasi dari blondo berupa *Lactococcus plantarum*. Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk melisis bakteri dan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. Blondo yang diberikan 15% dalam ransum ayam broiler terbukti meningkatkan total BAL dan menurunkan *Salmonella* sp. di duodenum ayam broiler. Penelitian Rasyid dkk. (2021) menyatakan bahwa ditemukan BAL dari sampel blondo yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Streptococcus* sp.. BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (81,25%).

Hasil penelitian dari Rahmadi dkk. (2013) isolat bakteri asam laktat dari *Virgin Coconut Oil* menunjukkan kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aereus*. *Lactobacillus casei* menghasilkan VCO-BAL dengan persentase lebih besar yaitu 34,5%, VCO-BAL *Lactobacillus plantarum* asal isolat mandai 29,5% dan blondo kelapa sebesar 25,3%.

2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat atau BAL merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, bakteri katalase negatif yang tidak memiliki sitokrom. BAL berdasarkan kebutuhan oksigen merupakan non-aerob, namun toleran terhadap kondisi aerob. BAL memiliki toleransi terhadap asam dan bersifat fermentatif ketat. Asam laktat merupakan produk akhir utama yang dihasilkan dari fermentatif gula (Šušćković *et al.*, 2010). BAL berbentuk bulat (*cocci*) dan batang (*bacil*) (Ali, 2011). Secara morfologi, BAL berbentuk sirkular, elevasi cembung dan tepi rata. Koloni berwarna putih dan kekuningan. Koloni berdiameter 0,5-1 mm (Zakariah *et al.*,

2019). BAL merupakan bakteri pengurai gula menjadi asam laktat melalui proses fermentasi (Mustika dkk., 2019).

BAL digunakan sebagai kultur starter dalam fermentasi makanan karena dinilai mampu meningkatkan kualitas, lama masa simpan, keamanan, kandungan nutrisi serta rasa secara keseluruhan dari produk makanan tersebut (Kulla & Retnaningrum, 2019). Produk sampingan dari BAL yaitu asetat, etanol, CO₂, format dan suksinat (Usman dkk., 2018). BAL membutuhkan nutrisi utama berupa terpenuhinya sumber karbon dan nitrogen. Karbohidrat dibutuhkan sebagai nutrisi yang lebih banyak dibandingkan dengan protein. (Azizah dkk., 2012) BAL menggunakan sumber karbon sebagai sumber energi dan bahan pembentuk asam laktat, sedangkan nitrogen digunakan sebagai bahan pembentuk biomassa sel. BAL pada fase pertumbuhan memanfaatkan protein sebagai sumber nitrogen, yang digunakan oleh bakteri untuk sintesis protein, asam amino (Safitri dkk., 2016). Sumber karbon yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat adalah glukosa. Glukosa sebagai monosakarida merupakan senyawa yang langsung dapat digunakan secara penuh oleh bakteri *Pediococcus pentosaceus* dalam metabolismenya. (Yeni dkk., 2016).

BAL menghasilkan senyawa antibakteri berupa asam laktat, asam asetat, alkohol, aldehid dan bakteriosin. BAL umumnya menghasilkan asam organik yang memiliki efek penghambatan dengan mekanisme pembentukan molekul yang tidak terikat. Molekul tersebut selanjutnya berdifusi melalui membran sel ke sitosol yang bersifat lebih basa untuk mengganggu fungsi metabolik yang penting pada sel mikrobial patogen (Oliveira & Serrano, 2015).

BAL heterofermentatif diketahui mampu memproduksi flavoprotein oksidase yang dapat mengkatalis reduksi oksigen dan menyebabkan akumulasi hidrogen peroksida. Aktivitas antimikrobia dari hidrogen peroksida mampu melangsungkan proses oksidasi yang cukup kuat sehingga mampu merusak struktur molekul dasar protein sel mikrobial patogen. Kelompok BAL heterofermentatif mampu menghasilkan asetaldehid aktif yang dapat berperan dalam mengatur pertumbuhan kontaminan bersamaan dengan metabolit antimikrobia apabila konsentrasinya lebih rendah dari yang dibutuhkan untuk menghambat mikrobial tak diinginkan (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Senyawa CO₂ menjadi salah satu produk akhir yang mampu dihasilkan oleh kelompok BAL. CO₂ berpotensi menjadi salah satu agen antimikrobia karena selain memiliki aktivitas antimikrobia, CO₂ dapat membuat lingkungan anaerob dengan mengganti oksigen molekular yang ada. Aktivitas antifungal dari CO₂ yang dipengaruhi pengambatan dekarboksilasi enzimatis dan akumulasinya dalam membran lipid ganda mampu menyebabkan disfungsi permeabilitas sel mikrobial patogen (Santosa & Retnaningrum, 2020). Kelompok BAL diketahui mampu menghambat pertumbuhan dari beberapa bakteri patogen seperti *Aeromonas hydrophyla*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* (Nurhikmayani *et al.*, 2019).

Bakteriosin menjadi salah satu produk yang dihasilkan oleh kelompok BAL dan memiliki potensi antimikrobia. Bakteriosin merupakan substansi protein antibakteri dengan aktivitas bakterisidal yang melawan spesies yang berkerabat (*narrow spectrum*) atau antar genera (*broad spectrum*). Bakteriosin yang diproduksi BAL merupakan peptida antimikrobia kecil atau protein dengan

spektrum penghambatan yang luas. Spektrum antibakteri yang dimiliki oleh BAL mencakup organisme pembusuk dan patogen bawaan makanan seperti *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus* (Retnaningrum *et al.*, 2020).

2.2.1 Lactobacillus

Lactobacillus termasuk bakteri Gram positif, berbentuk basil/batang dengan ukuran 0,5-1,2 x 1,0- 10,0 μm , tidak membentuk spora, non-motil, katalase negatif, bakteri ini mampu tumbuh pada media agar MRS pada pH 4,4 (Cho *et al.*, 2013). Keunggulan dari genus ini yaitu dapat digunakan sebagai probiotik, karena tahan terhadap garam empedu dan pH rendah, dapat menghasilkan zat antibakteri, serta bersifat antagonistik terhadap patogen enterik. Beberapa spesies yang digunakan sebagai probiotik dalam produk komersial diantaranya *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, dan *L. cellobiosus*, *L. bulgaricus* (Sunaryanto, 2014).

2.2.2 Pediococcus

Pediococcus memiliki karakteristik berbentuk *coccus*, termasuk bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, non-motil, tergolong homofermentatif. *Pediococcus* memiliki bentuk yang berbeda dari jenis *coccus* lainnya yaitu membentuk tetrad dan tidak menghasilkan gas (Wikandari dkk., 2012). *Pediococcus* dapat tumbuh pada suhu 25-40°C dengan pH 4,2 (Hutkins, 2006).

2.2.3 Streptococcus

Streptococcus memiliki ciri-ciri yaitu Gram-positif, berbentuk kokus (bulat, oval) berpasangan atau membentuk rantai, berukuran 0,5-1,0 μm setelah inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, dan non-motile (Sulmiyati, 2018). *Streptococcus* memiliki 35 spesies yang telah diidentifikasi, yang dapat dimanfaatkan sebagai

fermentasi produk dalam pemroduksian minuman ataupun makanan. Beberapa spesies yang sering digunakan yaitu *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. salivarius*, subsp. *Thermophiles* dan *S. intermedius* (Hidayat, 2018).

2.2.4 Leuconostoc

Leuconostoc memiliki karakteristik bentuk sel kokus, termasuk bakteri Gram positif, uji katalase negatif dan menghasilkan asam laktat. *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* termasuk heterofermentatif, yaitu memfermentasi gula menjadi asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂ (Hutkins, 2006). BAL tipe heterofermentatif memecah glukosa menghasilkan ± 50% asam laktat dan sisanya dapat berupa etanol, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan CO₂ (Fauzi dkk., 2012).

2.3 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Identifikasi adalah suatu tahapan dari karakterisasi yang diawali dengan pengamatan bentuk morfologinya (Megasari, 2012). Identifikasi mikroba dilakukan untuk melihat karakter mikroba baik secara morfologi, biokimia dan molekuler dari bakteri yang dituju (Putri & Kusdiyantini, 2018). Identifikasi bakteri baik secara makroskopis dan mikroskopis untuk menentukan ciri-ciri dan karakter morfologis. Hasil ciri-ciri awal akan dicocokkan terlebih dahulu menggunakan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative of Bacteriology*. Pengamatan secara morfologi diamati terkait bentuk, tepi, warna, elevasi, permukaan koloni yang dapat dilihat secara makroskopis. Sedangkan secara mikroskopis pengamatan dengan cara pewarnaan Gram, untuk melihat warna dan bentuk sel untuk dapat digolongkan (Dewi, 2019).

Pengecatan Gram merupakan proses terpenting dalam identifikasi bakteri. Bakteri Gram negatif ketika ditetesi pewarnaan Gram akan berwarna merah

sehingga tidak termasuk dalam syarat BAL. Jika membentuk warna ungu pada selnya dalam pewarnaan Gram maka dapat digolongkan sebagai bakteri Gram positif. Dilakukan pengujian katalase untuk membuktikan adanya enzim katalase pada suatu isolat terpilih (Amaliah dkk., 2018).

- a. Pewarnaan Gram dilakukan agar bisa mengetahui bakteri tersebut bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif. Prinsip pengecatan Gram apabila isolat bakteri ditetesi kristal violet, jika bakteri tersebut Gram positif maka dengan mudah menyerap zat warna tersebut hingga menghasilkan warna ungu. Apabila bakteri tersebut termasuk Gram negatif ketika dicuci dengan alkohol akan mudah melepas zat warna kristal violet yang ditetesi sehingga akan menyerap warna terakhir yaitu safranin (Putri & Kusdiyantini, 2018).
- b. Pewarnaan Endospora digunakan untuk mengetahui spora dari sel vegetatif. Bakteri yang ditetesi pewarna *malachite green* dapat menyerap zat warna tersebut sehingga berwarna hijau termasuk dalam jenis bakteri pembentuk spora. Bakteri jenis non endospora ketika dilakukan pengamatan maka akan berwarna merah pada sel vegetatifnya (Amaliah dkk., 2018). BAL akan nampak berwarna merah tanpa warna hijau karena tidak membentuk endospora (Laily dkk., 2013).
- c. Uji katalase bertujuan untuk menentukan aktivitas katalase terhadap bakteri yang diuji. Hampir sebagian besar bakteri menghasilkan enzim katalase yang mampu merombak H_2O_2 menjadi O_2 dan H_2O (Aritonang *et al.*, 2017). BAL merupakan bakteri yang tergolong negatif katalase. Hal ini karena BAL tidak menghasilkan enzim katalase, sehingga tidak dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Suardana dkk., 2018).

- d. Fermentasi asam laktat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif. Proses fermentasi bersifat homofermentatif disebabkan satu jenis komponen yang dihasilkan, misalnya asam laktat, sedangkan fermentasi bersifat heterofermentatif menghasilkan campuran berbagai senyawa atau komponen lainnya, misalnya asetat, etanol, karbondioksida, dan asam laktat (Yanti & Dali, 2013) (Purwohadisantoso dkk., 2009) Pada uji fermentasi, BAL yang bersifat heterofermentatif akan terbentuk gelembung gas pada tabung Durham.

2.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

MRS merupakan media spesifik yang dipakai untuk menumbuhkan beberapa kelompok bakteri asam laktat (Widodo, 2019). BAL pada umumnya dapat tumbuh di media *de Mann Rogose and Sharpe* (MRS) (Safitri, 2016). Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam proses isolasi mikroorganisme, yaitu: sifat mikroorganisme, media pertumbuhan harus sesuai, cara menginokulasi mikroorganisme, cara pengujian mikroorganisme yang telah diisolasi disesuaikan dengan apa yang akan diujikan dan cara memelihara mikroorganisme yang telah diisolasi agar menjadi kultur murni (Handayani dkk., 2016). Koloni yang membentuk zona bening diambil, zona bening tersebut dihasilkan dari produksi asam organik sehingga CaCO_3 terhidrolisis dari MRS (Amaliah dkk., 2018).

Isolasi mikroba merupakan upaya dalam menumbuhkan suatu mikroorganisme di luar lingkungan alaminya, untuk mendapatkan kultur bakteri murni. Hal yang penting dalam tahap ini yaitu satu jenis mikroba dipisahkan dengan mikroba lainnya yang berbeda. Mikroorganisme dengan mudah tersebar di lingkungan bebas seperti air, minuman, makanan, udara, tanah maupun tubuh

manusia (Jufri, 2020). Penambahan senyawa CaCO_3 pada media MRSA digunakan untuk menyeleksi bakteri yang menghasilkan asam laktat, sehingga zona bening yang terbentuk pada media MRSA tersebut disebabkan adanya reaksi asam organik yang dihasilkan oleh BAL dengan senyawa yang terkandung di dalam media. Pada umumnya, senyawa CaCO_3 digunakan untuk isolasi BAL karena sifatnya yang mampu bereaksi dengan asam laktat dan membentuk senyawa baru yaitu kalsium laktat ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$) sehingga menimbulkan warna bening pada media (Falakh dan Asri, 2022). Penambahan CaCO_3 untuk memproduksi asam laktat lebih banyak serta mengatur derajat keasaman (pH) medium (Pramudyanti dkk., 2004).

2.5 Bakteriosin

Bakteriosin merupakan peptida kationik dan hidrofobik dengan berat molekul rendah, diproduksi secara ribosom oleh bakteri yang menunjukkan kemampuan untuk menghambat bakteri lain yang terkait erat (filogenetik) tanpa mempengaruhi strain penghasil. Penelitian menunjukkan bakteriosin dapat dihasilkan dari bakteri Gram positif maupun Gram negatif seperti dari kelompok bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, dan *Pediococcus*), *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Escherichia coli*, *Shigella*, *Serratia*, *Klebsiella* dan *Pseudomonas*. Bakteriosin dari bakteri Gram positif cenderung lebih disukai karena keamanannya atau GRAS (*Generally Recognized As Safe*) untuk manusia. Status keamanan sangat penting, karena diaaplikasikan dalam berbagai bidang seperti bahan pengawet pangan hingga agen terapeutik atau obat-obatan. Sifat bakteriosin dari BAL yang mendukung penggunaannya pada pangan yaitu tidak aktif dan tidak bersifat toksik pada sel eukariotik, dapat dinonaktifkan enzim protease selama pencernaan sehingga tidak

terlalu berpengaruh terhadap mikrobiota usus, stabil terhadap pH dan panas tinggi, dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk, serta tidak menyebabkan resistensi silang dengan antibiotik (Kurnianto dkk., 2022).

Bakteriosin memiliki sifat bakterisida yang hampir sama dengan antibiotik, tetapi terdapat perbedaan yang signifikan antara bakteriosin dengan antibiotik. Perbedaan tersebut membuat aplikasi bakteriosin dan antibiotik sangat berbeda. Penggunaan antibiotik sebagai bahan tambahan pangan bersifat illegal, sementara bakteriosin umumnya dianggap *food-grade* karena berasosiasi dengan BAL. Penggunaan bakteriosin pada produk pangan dapat ditambahkan dalam bentuk sediaan murni atau semi murni, bubuk bioaktif, ekstrak kasar, dan pelapis/film. Beberapa produk pangan yang mengaplikasikan bakteriosin sebagai biopreservatif diantaranya seperti produk daging, susu, sayur, buah, makanan laut, dan produk-produk turunannya (Kurnianto dkk., 2022).

2.5.1 Klasifikasi Bakteriosin

Klasifikasi bakteriosin berdasarkan karakteristik genetik dan biokimia dibagi menjadi tiga kelas utama, yaitu (Güllüce *et al.*, 2014):

1. Kelas I: Lantibiotik

Kelas I adalah bakteriosin dengan peptida kecil berukuran <5 kDa dan relatif stabil terhadap panas, contohnya nisin dan laktisin. Bakteriosin ini mengalami pascatranslasi dan dimodifikasi dengan menggabungkan non-tradisional asam amino seperti *dehydroalanine*, *dehydrobutyrine*, *methyl-lanthione* dan *lantionine*.

2. Kelas II: Non lantibiotik

Bakteriosin kecil dengan ukuran <10 kDa, relatif stabil terhadap panas dan peptida pada sisi aktifnya tidak mengandung lantionin. Kelompok ini dibagi lagi dalam tiga subkelas, yaitu:

a. Kelas IIa dicirikan dengan menunjukkan aktivitas antilisterial yang tinggi.

Bakteriosin ini juga mencakup 37-48 residu asam amino dalam struktur molekulnya. Bagian terminal-N dari senyawa memiliki konfigurasi lembaran berlipat dan bagian terminal C mengandung satu atau dua α heliks. Dalam mekanisme aksi, bakteriosin dari subkelas II-A jatuh ke dalam membran sel-sel target oleh terminal C. Hal ini mendorong pembentukan pori dan akibatnya disipasi gaya gerak proton yang menyebabkan konsumsi ATP tinggi dan akibatnya kematian. Pediocin, enterocin dan sakacin adalah contoh subkelas II-A yang paling terkenal.

b. Kelas IIb merupakan bakteriosin heterodimerik yang terdiri dari dua peptida.

Anggota subkelas bakteriosin ini memenuhi tiga kriteria: (i) aktivitas antimikroba penuh membutuhkan peptida dan peptida individu menunjukkan sedikit atau tidak ada aktivitas, (ii) satu protein kekebalan cukup untuk mendapatkan kekebalan, dan (iii) organisasi genetik bakteriosin. sistem bakteriosin mencakup dua gen struktural bakteriosin berurutan yang mengkode peptida individu dan satu gen imunitas. Lactococcin G adalah bakteriosin pertama yang ditemukan dari kelompok ini dan aktivitas antimikrobanya bergantung pada α dan β peptida. Contoh lainnya yaitu Plantaricin dan lactacin F. Mekanisme kerjanya melibatkan pelepasan potensial membran dan penurunan konsentrasi ATP intraseluler.

Meskipun keberadaan kedua peptida diperlukan untuk mendapatkan aktivitas antimikroba penuh, peptida individu dapat bertindak sebagai antimikroba residual dengan efek sederhana dalam beberapa kasus.

- c. Kelas IIc memiliki struktur melingkar yang terkait dengan ikatan kovalen antara terminal C dan N yang menyebabkan bentuk siklik dari kepala ke ekor dari peptida. Perwakilan utama dan contoh paling banyak dipelajari dari subkelas ini adalah AS-48 dari *Enterococcus faecalis*. Mekanisme aksinya, AS-48 menembus membran sitoplasma sel target, menghasilkan disipasi kekuatan motif proton dan akhirnya kematian sel.

3. Kelas III

Kelas ini mencakup bakteriosin yang memiliki berat molekul besar (>30kDa) dengan protein yang tidak stabil terhadap panas. Kriteria penting untuk anggota kelompok ini adalah bahwa bakteriosin Kelas III memiliki aktivitas kompleks dan struktur protein yang memberikan mekanisme aksi yang sama sekali berbeda dari bakteriosin lain, di mana mereka menginduksi lisis dinding sel mikroorganisme target. Pada mode proses aksi, bagian N-terminal dari molekul bertindak sebagai endopeptidase dan bagian C-terminal mengenali sel target.

2.5.2 Produksi Bakteriosin

Bakteriosin merupakan protein antibakteri dari BAL yang disintesis oleh ribosom. Sintesis bakteriosin terjadi pada fase eksponensial dalam tahap pertumbuhan sel. Sintesis ini dikendalikan oleh plasmid dari DNA ekstrakromosomal. Sekresi propeptida berlangsung pada saat fase eksponensial dan maksimal saat fase stasioner. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi

bakteriosin antara lain pH, suhu, fase pertumbuhan serta sumber karbon. Selain itu, jenis sumber nitrogen dan karbon serta kandungan garam dalam media produksi juga dapat berpengaruh pada laju pertumbuhan sel bakteri, sehingga akan mempengaruhi produksi bakteriosin (Hafsan, 2014).

Proses sintesis bakteriosin terdiri dari 5 tahap, yaitu: a). Pembuatan kultur BAL dalam media MRSB,; b). Isolasi atau produksi bakteriosin, produksi bakteriosin menggunakan media Tripton-glukosa-yeast ekstrak (TGE); c). Pengujian aktivitas antibakteri bakteriosin, yakni dengan metode difusi cakram maupun sumuran; d). Pengujian karakterisasi senyawa bakteriosin, yakni pengkarakterisasian supernatan dari bakteriosin. Pengujian karakterisasi antara lain pengujian kestabilan bakteriosin terhadap pH, suhu, enzim, dan juga larutan surfaktan, serta berbagai parameter lainnya. e). Pemurnian bakteriosin, yakni melalui elektroforesis yang digunakan untuk menentukan ukuran molekul, dan dilanjutkan dengan menentukan jenis asam amino dari bakteriosin (Hafsan, 2014).

2.5.3 Mekanisme Kerja Bakteriosin

Bakteriosin dari BAL memiliki target utama yaitu membran sitoplasma bakteri pada sel yang sensitif. Hal ini dikarenakan respon pertama bakteriosin yaitu merusakkan permeabilitas membran sel juga mereduksi *Proton Motive Force* (PMF), akibatnya bakteriosin dapat mengganggu produksi ATP serta sintesis protein (Hafsan, 2014). PMF adalah gradien elektrokimia yang melintasi membran sitoplasma, yang terbagi menjadi potensial membran juga gradien pH (Suwayvia, 2017).

Peran PMF dalam mengatur sintesis ATP serta akumulasi ion dan metabolit lain. Sel target yang telah diinduksi dengan aktivitas bakteriosin menyebabkan

turunnya PMF. Penurunan PMF mengakibatkan kematian pada sel target dengan cara menghentikan reaksi yang menghasilkan ATP. Rendahnya ATP pada sel menyebabkan pengangkutan nutrisi dalam sel tidak dapat berlangsung serta konsentrasi molekul kofaktor seperti K^+ dan Mg^{+} tidak dapat dipertahankan. Akibatnya akan terjadi kematian pada sel (Suwayvia, 2017).

Mekanisme kerja aktivitas bakterisidal dari bakteriosin yakni: (1) molekul terjadinya kontak langsung bakteriosin dan membran sel, (2) terjadinya gangguan potensial membran yakni tidak stabilnya membran sitoplasma akibat dari adanya kontak langsung, akibatnya sel menjadi melemah, dan (3) membran menjadi tidak stabil, yang akhirnya dapat mempengaruhi pembentukan pori-pori atau lubang pada membran sel dengan mengganggu PMF, sehingga akan terjadi kebocoran membran sitoplasma. Molekul seluler yang keluar masuk menunjukkan terjadinya kebocoran sel yang disebabkan karena terbentuknya lubang pada membran sitoplasma. Kebocoran tersebut menyebabkan turunnya gradien pH seluler. Terbentuknya pori pada sitoplasma adalah dampak dari aktivitas bakteriosin. Aktivitas tersebut mengakibatkan terjadinya berubahnya gradien potensial membran serta lepasnya molekul intraseluler dan substansi ekstraseluler (lingkungan) masuk ke dalam sel. Akibatnya, dapat menghambat pertumbuhan sel dan menyebabkan kematian pada sel (Hafsan, 2014).

Secara umum bakteri Gram positif memiliki kisaran sensitivitas yang luas terhadap bakteriosin, sedangkan bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap bakteriosin. Bakteriosin dari BAL tidak efektif membunuh bakteri Gram negatif. Hal ini karena bakteri Gram negatif memiliki membran luar hidrofilik, yang dapat mengganggu metabolisme bakteriosin. Hal ini disebabkan bakteri Gram negatif

memiliki sistem selektif terhadap zat asing yang terdapat pada lipopolisakarida. Namun, bakteri gram negatif dapat menjadi sensitif jika struktur lipopolisakarida pada permukaan sel rusak (Hafsan, 2014).

2.5.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Fase pertumbuhan bakteri terdiri atas 4 fase, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Fase lag merupakan fase adaptasi ataupun kemampuan bakteri menyesuaikan diri dengan konsisi lingkungan baru. Kemampuan adaptasi bakteri pada fase lag sangat beragam, hal ini dipengaruhi oleh komposisi media, jumlah sel pada inokulum awal, kondisi pH, suhu dan sifat fisiologis mikroba pada media sebelumnya. Fase lag juga disebut dengan fase awal ataupun fase penyesuaian aktivitas mikroba pada lingkungan baru. Fase lag biasanya berlangsung mulai dari beberapa menit hingga beberapa jam. Panjang fase lag dapat dikontrol sampai batas tertentu karena tergantung pada jenis medium dan juga pada ukuran inokulum awal. Fase eksponensial merupakan fase pertumbuhan yang kedua. Fase ini dibuktikan dengan terjadinya periode pertumbuhan yang sangat cepat. Pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial dipengaruhi oleh kondisi suhu, pH, nutrient dalam media dan sifat genetik mikroba. Fase eksponensial merupakan fase yang diperlukan mikroba untuk pembelahan sel atau penggandaan yang disebut dengan waktu generasi. Fase stasioner adalah fase ketika laju pertumbuhan sama dengan laju kematian mikroba, sehingga hasilnya jumlah mikroba tersebut secara keseluruhan akan tetap. Bakteri yang tumbuh akan mencapai titik ketika laju pertumbuhan menurun, ini menunjukkan awal fase stasioner. Fase kematian adalah fase yang dapat dilihat dengan adanya peningkatan jumlah laju kematian yang melebihi jumlah laju pertumbuhan (Risna dkk., 2022).

Bakteriosin mencapai produksi tertinggi dengan aktivitas penghambatan terbesar pada pertengahan fase pertumbuhan eksponensial hingga awal fase stasioner dan aktivitasnya akan berkurang bahkan tidak terdeteksi lagi selama fase pertumbuhan stasioner (Suroño dkk., 2016). Waktu maksimum dalam siklus pertumbuhan untuk memproduksi bakteriosin tergantung dari jenis bakteri dan dapat terjadi dari akhir fase log hingga fase stasioner awal (Hasanah dkk., 2019).

Penelitian Khoiriyah dan Ardiningsih (2014) menyebutkan pada kurva pertumbuhan *Lactobacillus* sp. RED₄ terdiri dari fase lag pada jam ke-0 sampai jam ke-2. Fase eksponensial dimulai pada jam ke-2 hingga jam ke-16. Fase stasioner mulai jam ke-16 sampai jam ke 24, dimana jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati karena cadangan makanan mulai menipis dan BAL akan menghasilkan metabolit sekunder sebagai pertahanan diri. Sedangkan penelitian Hasanah dkk. (2019) menyebutkan BAL memproduksi bakteriosin optimum pada waktu inkubasi 24 jam dan waktu inkubasi maksimum adalah 48 jam, karena semakin lama waktu inkubasi akan terjadi pembentukan dan aktifnya protease atau zat inaktivator lainnya yang dapat mengurangi aktivitas bakteriosin.

Hasan dan Wikandari (2018) menyebutkan dalam penelitiannya bahwa *Lactobacillus plantarum* B1765 mengalami 3 fase dalam pertumbuhannya. Fase lag pada jam ke-0 hingga jam ke-6, fase log pada jam ke-6 hingga jam ke-18 dan fase stasioner pada jam ke-18 hingga ke-48. Waktu inkubasi yang bertambah menunjukkan aktivitas bakteriosin yang cenderung menurun hingga akhir fase stasioner. Hal ini dikarenakan waktu inkubasi berhubungan dengan nutrisi, pH media dan suhu yang merupakan faktor kritis suatu bakteri dalam menghasilkan bakteriosin. Waktu inkubasi yang meningkat menyebabkan nutrisi media menjadi

menipis dan pH menjadi sangat asam karena terjadi produksi asam-asam organik dalam jumlah besar, sehingga aktivitas bakteriosin menjadi cenderung menurun.

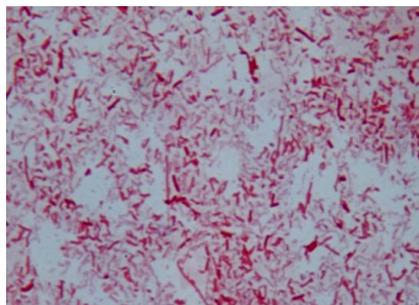
2.6 *Salmonella typhi*

2.6.1 Klasifikasi *Salmonella typhi*

Klasifikasi *Salmonella typhi* menurut Ugboko & De (2014) memiliki beberapa tingkatan, diantaranya yaitu:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Species : *Salmonella enterica*
Subspecies : *Salmonella enterica enterica*
Serovar : *Salmonella enterica serovar Typhi*

2.6.2 Karakteristik *Salmonella typhi*



Gambar 2.1. *Salmonella typhi* (Ikawikanti, 2013)

Salmonella merupakan bakteri gram negatif anaerob fakultatif yang memiliki bentuk batang dengan panjang 2-5 mikrometer dan memiliki lebar 0.5-

1.5 mikrometer. *Salmonella* memiliki flagella peritriks yang menyebabkan *Salmonella* termasuk bakteri yang dapat bergerak atau motil. *Salmonella* memiliki ukuran genome antara 4460 hingga 4857 kb, ukuran genome ini berbeda-beda tiap serovar bakteri *Salmonella*. *Salmonella typhi* merupakan bakteri berkapsul dan bakteri yang tidak berspora. Dinding sel bakteri *Salmonella typhi* mengandung lipoprotein, murein, fosfolipid, lipopolisakarida, dan protein. *Salmonella typhi* disebut bakteri *facultative intra-cellular parasites* dikarenakan memiliki sifat fakultatif (Permanasari, 2015).

Salmonella typhi memiliki antigen utama dalam tubuhnya yang berjumlah sebanyak tiga antigen. Antigen tersebut yaitu antigen somatik O, antigen flagella H, dan antigen kapsul K. Antigen somatik O merupakan komponen oligosakarida dari lipopolisakarida yang terletak pada luar membran bakteri. *Salmonella* serotipe spesifik dapat mengekspresikan lebih dari satu antigen O pada permukaannya. Antigen H ditemukan pada flagella bakteri. Antigen H terlibat pada aktivasi respon imun pejamu. Antigen permukaan Vi merupakan subtipe antigen permukaan K. Antigen permukaan K merupakan polisakarida yang terletak pada permukaan kapsul bakteri. Antigen permukaan K merupakan antigen yang paling jarang ditemukan pada serotipe *Salmonella* (Eng *et al.*, 2015).

2.6.3 Patogenitas *Salmonella typhi*

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut pada usus halus yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*. Demam tifoid termasuk penyakit menular yang tercantum dalam Undang-Undang Nomor 6 Tahun 1962 tentang wabah. Kelompok penyakit menular ini merupakan penyakit yang mudah menular dan dapat menyerang banyak orang sehingga dapat menimbulkan wabah. Penularan terjadi

melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, sehingga sanitasi yang jelek menyebabkan penyebaran dari fekal ke oral (Marhani, 2018).

Dosis infeksi atau jumlah *Salmonella typhi* yang menyebabkan seseorang sakit bervariasi antara 10^3 sampai 10^6 sel. *Salmonella typhi* harus mampu bertahan hidup di lambung yang mempunyai pH rendah untuk menginfeksi usus halus. Makanan atau minuman yang terkontaminasi menjadi perantara *Salmonella typhi* masuk ke dalam usus halus. Pada usus halus, *Salmonella typhi* menempel pada sel mukosa kemudian menginfeksi mukosa. *Salmonella typhi* masuk ke dalam epitelium mukosa dengan cara enterosit, kemudian menembus dinding usus sehingga mencapai folikel usus halus. Selanjutnya melalui saluran limfe mesenterik masuk ke aliran darah secara sistemik (disebut bakteremia ke-1) lalu mencapai retikulo endotelial dan jaringan tubuh. Setelah berada dalam sirkulasi sistemik (disebut bakteremia ke-2) akan mencapai organ tubuh. Waktu inkubasi adalah antara 7 sampai 14 hari dan waktu ini tergantung dari jumlah bakteri, virulensi, dan respon daya tahan tubuh manusia (Hardianto, 2019).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

2.7.1 Metode Dilusi

Metode pengenceran biasanya dipakai untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) agen antibakteri. Metode pengenceran ini dibagi menjadi dua jenis yaitu metode pengenceran cair dan metode pengenceran padat. Letak perbedaan dari kedua jenis metode ini yaitu pada jenis media yang digunakan. Untuk metode pengenceran cair maka media yang digunakan yaitu media cair, sedangkan yang metode dilusi padat menggunakan media jenis agar. Kedua metode ini dipakai mengukur aktivitas

antibakteri secara *in vitro*. Nilai KHM tercatat sebagai konsentrasi antimikroba terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang umumnya dinyatakan dalam satuan $\mu\text{g/mL}$ atau mg/L (Balouiri dkk., 2016).

Metode dilusi cair berupa dilusi mikro dan dilusi makro. Dilusi dilakukan dengan mengurangi konsentrasi agen antimikroba pada media cair, konsentrasi yang digunakan disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan (Balouiri dkk., 2016). Pembacaan hasil berupa mikroorganisme yang tumbuh atau tidak di dalam medium. Larutan dikategorikan KHM apabila, media dengan konsentrasi terendah yang dapat menghambat bakteri setelah 24 jam inkubasi. Penentuan KBM dengan melihat media yang masih bening setelah diinkubasi, sehingga media menandakan tidak ditumbuhi oleh bakteri (Pratiwi, 2008). Pentingnya penentuan KHM dan KBM karena guna mengantisipasi terjadinya overdosis karena penggunaan kadar yang berlebihan dan mengantisipasi terjadinya reaksi toksik (Tortora, 2010).

Metode dilusi pada secara umum hampir mirip dengan teknik dilusi cair. Perbedaan metode diantara keduanya yaitu media yang digunakan, yaitu pada teknik ini menggunakan media padat berupa agar. Kelebihan dilusi padat yaitu kadar sampel yang digunakan sebagai agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroorganisme uji (Pratiwi, 2008).

2.7.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode lain untuk menguji aktivitas antimikroba. Uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode sumuran dan kertas cakram. Inti dari metode cakram yaitu dengan mengujikan sampel agen antimikroba yang sudah diserap oleh kertas cakram ke cawan petri berisi media padat dengan sejumlah mikroorganisme uji

standar. Sampel yang telah diserap oleh kertas cakram tadi akan berdifusi ke media yang sudah berisi mikroba uji tadi. Setelah inkubasi, dilakukan pengukuran diameter yang dihasilkan dari agen antibakteri yang telah diuji. Semakin luas spectrum yang dihasilkan dari sampel yang digunakan sebagai agen antibakteri maka aktivitasnya sebagai agen antibakteri tergolong tinggi. Metode difusi adalah metode yang paling umum dipakai karena mudah, murah dan efisien (Tortora, 2010).

Metode sumuran dilaksanakan dengan melubangi media padat berisi bakteri uji. Media yang telah dilubangi diisi sampel pengujian. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang. Metode sumuran memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas media tetapi juga sampai ke bawah. Kesulitan metode ini berupa sisa-sisa agar pada media, selain itu kemungkinan besar media akan rusak atau retak sehingga mengganggu proses peresapan sampel pengujian ke dalam media yang akan memengaruhi terbentuknya diameter zona bening (Nurhayati dkk., 2020).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi berupa isolasi yang diambil dari limbah pengolahan VCO dan eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Karakterisasi bakteri hasil isolasi dilakukan dengan uji pewarnaan gram, uji pewarnaan endospora, uji katalase dan uji pembentukan gas. Asam laktat yang telah diproduksi menjadi ekstrak bakteriosin kasar kemudian di uji aktivitas antibakteri dan uji KHM serta uji KBM yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minum bakteriosin yang dapat menghambat dan membunuh bakteri *Salmonella typhi*, dengan menggunakan variasi konsentrasi filtrat asam laktat yang terdiri dari:

AA/BB 0 : konsentarsi 0% (media MRSB)

AA/BB 2 : konsentrasi 2% (0,2 ml)

AA/BB 4 : konsentrasi 4% (0,4 ml)

AA/BB 6 : konsentrasi 6% (0,6 ml)

AA/BB 8 : konsentrasi 8% (0,8 ml)

AA/BB 10 : konsentrasi 10% (1 ml)

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Agustus 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak bakteriosin kasar yang telah di isolasi dari blondo VCO dengan konsentrasi 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dan uji KHM serta KBM terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah suhu, media dan waktu inkubasi.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu *shaker incubator*, *centrifuge*, jarum ose, elenmeyer, neraca analitik, cawan petri, tabung rekasi, , tabung Durham, Erlenmeyer, cawan petri, *hot plate*, gelas ukur, *beaker glass*, pembakar bunsen, autoklaf, *hot plate*, LAF (*Laminar Air Flow*), lemari pendingin, inkubator, *objek glass* dan *cover glass*, mikroskop, mikropipet, *magnetic stirrer*, *blue tip*, *yellow tip*, pH meter, tabung eppendorf, dokumentasi, alat tulis, standar *Mc Farland* 0,5.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian meliputi sampel blondo VCO, media MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan media MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*), MHA (*Mullen Hiton Agar*) pewarna gram kristal violet, pewarna endospora *malachite green*, minyak imersi, iodin, safranin, larutan

hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, NaCl 0,9%, NaOH, *yeast extract* 2%, CaCO₃ 1%, kertas cakram, kertas saring, aquadest steril, isolat bakteri *Salmonella typhi*, plastik wrap, kapas, karet, tissue, kasa, kertas label, iodin, antibiotik kloramfenikol, kertas Whatman No. 1.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dengan membungkus semua alat dan media menggunakan aluminium foil dan diwrap dengan plastik agar rapat, setelah itu dibungkus dengan plastik tahan panas. Disterilisasi semua menggunakan autoklaf bersuhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 hingga 30 menit. Selain itu, sterilisasi pinset dan jarum ose dapat dilakukan dengan memanaskan alat di atas api yang berpijar hingga menimbulkan warna merah pada alat. Pada beberapa alat yang tidak tahan panas dapat disterilkan dengan alkohol 70% (Istini, 2020).

3.5.2 Pengambilan Sampel

Sampel blondo didapatkan dari industri pengolahan *Virgin Coconut Oil* dan di bawa ke laboratorium lalu dipindahkan pada wadah steril secara aseptis untuk dilakukan isolasi dan karakterisasi lebih lanjut terkait bakteri asam laktat dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

3.5.3 Pembuatan Media

Media MRS (*De Man Rogosa Sharpe*) agar dibuat sebanyak 100 ml, dengan menambahkan 100ml aquades dan MRS agar sebanyak 6,82 gr lalu dipanaskan hingga mendidih dan sesekali diaduk agar larut. Lalu media dituangkan ke dalam Erlenmeyer yang sudah disterilkan, ditutup dengan kapas. Setelah itu dilakukan

sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C 1 atm (Mansur dkk., 2019).

Media MRS (*De Man Rogosa Sharpe*) broth dibuat sebanyak 100 ml, dengan menambahkan 100 ml aquades ditambah dengan MRS broth sebanyak 5,515. Dipanaskan hingga mendidih sesekali diaduk agar larut. Lalu dituangkan media yang sudah jadi ke dalam Erlenmeyer steril lalu ditutup menggunakan kapas. Setelah itu dilakukan sterilisasi di autoklaf selama 15 menit suhu 121°C (Mansur dkk., 2019).

Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dibuat sebanyak 250 ml dengan menambahkan aquades 250 ml dengan 9,5 gr MHA. kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer sampai homogen hingga jernih. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1,5 atm dan selama 15 menit. Setelah disterilisasi dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml yang akan digunakan sebagai medium dalam uji antibakteri (Hudaya dkk., 2014).

3.5.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Sampel blondo diambil pada antara minyak dan air menggunakan spatula dan dimasukan secara aseptis ke dalam botol sampel steril. Sampel blondo diambil 1 ml ditambahkan 9 ml NaCl 0,9% dan dihomogenkan. Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat sampai pengenceran 10^{-1} - 10^{-6} . Diambil 1 ml dari tiga seri pengenceran terakhir dan dimasukkan pada ± 15 ml MRS Agar yang telah ditambahkan dengan CaCO_3 1 % menggunakan metode *pour plate*. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang membentuk zona jernih pada media MRS agar (diduga sebagai BAL) diambil dengan jarum ose

dan diinokulasikan pada medium yang sama dengan metode goresan (*streak plate*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Metode goresan dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh koloni dengan bentuk yang seragam dan terpisah (Qonita dkk., 2018).

3.5.5 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) dari blondo dilakukan karakterisasi secara makroskopis meliputi morfologi (warna, tepian, elevasi, ukuran dan bentuk diamati ketika berada di dalam media MRSA), sedangkan pengamatan secara mikroskopis meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase dan uji tipe pembentukan gas. Data hasil pengujian karakteristik ini dapat dilakukan penelusuran yang mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

3.5.5.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat bakteri yang diperoleh termasuk bakteri Gram positif ataukah Gram negatif dengan cara meneteskan dua tetes aquades pada gelas objek dan diambil sampel bakteri lalu diratakan secara aseptis menggunakan jarum ose yang diletakkan di atas aquades, lalu dikeringkan dengan melewati gelas objek di atas api Bunsen ditunggu sampai kering. Masuk ke tahap pewarnaan, gelas objek yang telah kering di tetesi dengan pewarna kristal violet 2-3 tetes diamkan selama 1 menit, dibilas dengan aquades. Preparat ditetesi dengan iodine 1-2 tetes diamkan selama 1 menit, bilas dengan aquades. Lalu teteskan alkohol 96% selama 30 detik, dicuci menggunakan aquades, tahap akhir di teteskan pewarna safranin pada gelas objek 2-3 tetes, diamkan selama 1 menit, cuci menggunakan aquades. Preparat dikeringkan untuk dapat diamati dibawah

mikroskop, dengan ditetaskan minyak imersi. Berwarna ungu apabila termasuk Gram positif sebaliknya jika berwarna merah termasuk Gram negatif (Amaliah dkk., 2018).

3.5.5.2 Pewarnaan Endospora

Pengujian dilakukan dengan preparat yang telah difiksasi diletakkan diatas penangas air lalu ditutup dengan kertas saring. Malasit hijau (*Malachite green*) ditetaskan dan dibiarkan selama 5 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir. Dilakukan kembali pewarnaan dengan safranin kemudian biarkan selama 60 detik. Preparat dicuci, hasilnya diamati dibawah mikroskop. Endospora akan berwarna hijau sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah (Amalia dkk., 2018).

3.5.5.3 Uji Katalase

Pengujian katalase dilakukan dengan menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Isolat diambil dari stok kultur dan diletakkan pada kaca objek. Satu sampai dua tetes H_2O_2 3% ditambahkan ke isolat. Jika terbentuk gelembung mengindikasikan bakteri positif katalase, dan jika tidak maka mengindikasikan bakteri negatif katalase (Amalia dkk., 2018).

3.5.5.4 Uji Pembentukan Gas

Pengujian pembentuka gas dilakukan dengan muncul atau tidaknya gas yang dibentuk setelah fermentasi. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan kultur isolat dalam media MRS broth dalam tabung reaksi yang diberi tabung durham dengan keadaan terbalik untuk menangkap gas yang dihasilkan. Lalu diinkubasi selama 2 hari pada suhu $37^{\circ}C$ (Amalia dkk., 2018).

3.5.6 Produksi Bakteriosin

Pembuatan inokulum menurut Harianie (2013), isolat hasil peremajaan BAL masing-masing diinokulasikan sebanyak 2 ose dalam 25 ml MRSB, selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C dengan kecepatan 100 rpm hingga 18-24 jam menggunakan *shaker incubator*.

Inokulum diinokulasi pada media MRSB yang ditambahkan *yeast extract* 2% kecuali konsentrasi 0%. Penentuan konsentrasi mengacu pada Sulistijowati dan Mile (2015) dengan beberapa modifikasi dari peneliti. Untuk konsentrasi 10% berisi 1 ml suspensi BAL yang dikultur dalam 9 ml media. Konsentrasi 8% berisi 0,8 ml suspensi BAL yang dikultur dalam 9 ml media. Konsentrasi 6% berisi 0,6 ml suspensi BAL yang dikultur 9 ml media. Konsentrasi 4% berisi 0,4 ml suspensi BAL yang dikultur 9 ml media. Konsentrasi 2% berisi 0,2 ml suspensi BAL yang dikultur 9 ml media. Konsentrasi 0% berisi media MRSB. Semua perlakuan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C pada *shaker incubator* dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam.

Filtrat hasil fermentasi dipisahkan dari endapan sel dengan dilakukan sentrifugasi pada 4500 rpm selama 20 menit, dengan suhu 4°C. Proses sentrifugasi menghasilkan cairan dua fase yaitu supernatan dan endapan. Supernatan kemudian dipisahkan dengan disaring kertas Whatman No. 1, kemudian filtrat bebas sel dilakukan penetralan menggunakan NaOH 1N sampai pH sekitar 7. Filtrat hasil fermentasi merupakan ekstrak kasar bakteriosin yang akan digunakan untuk penelitian lebih lanjut (Hasan & Wikandari, 2018).

3.5.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi uji dengan diinokulasikan bakteri *Salmonella typhi* beberapa ose dalam 10 ml larutan NaCl 0,9%. Tabung kemudian dihomogenkan dengan *vortex* dan diatur tingkat kekeruhannya dengan disamakan pada larutan standar *Mc Farland* 0.5 (Amaliah dkk., 2018).

Komposisi larutan standar *Mc Farland* 0,5 terdiri dari 0,05 ml larutan barium klorida 1,175% dan 9,95 ml asam sulfat 1%. Langkah kerja pembuatan larutan standar *Mc Farland* adalah dengan menempatkan barium klorida dan asam sulfat dalam tabung reaksi kemudian dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan *Mc Farland*, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/mL (Fatisa, 2013).

Pembuatan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Menurut Widiastuti dkk. (2016), kadar yang sensitive antibiotik terhadap bakteri uji yaitu 30 µg. Pembuatannya dengan 30 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml aquadest kemudian diambil 10 µl sehingga diperoleh kadar 30 µl.

3.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji efektifitas bakteriosin dilakukan dengan difusi agar (kertas cakram). Koloni bakteri *Salmonella typhi* yang sudah disesuaikan dengan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5% yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Suspensi bakteri *Salmonella typhi* diambil 0,1 ml dituangkan kedalam ± 15 hingga 20 mL medium MHA steril dituangkan ke dalam cawan petri yang telah berisi suspensi kemudian dihomogenkan dengan cara diputar membentuk angka delapan hingga homogen. Medium dan suspensi bakteri patogen dibiarkan hingga memadat, kertas cakram yang telah direndam 0,5 ml bakteriosin dengan masing-masing konsentrasi

perlakuan diletakkan secara steril di atas medium. Semua sampel yang telah siap lalu diinkubasi dengan posisi cawan tidak terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam (Sulistijowati dan Mile, 2015).

Pengamatan terbentuknya zona bening dilakukan setelah 24 jam inkubasi. Diameter zona bening diukur secara vertikal dan horizontal lalu dikurangi dengan diameter kertas cakram. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan uji atau antibiotik yang dinyatakan dengan lebar diameter zona bening (Ismail dkk., 2017).

3.5.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Bunuh Minimum

Uji KHM dan KBM mengacu pada Effendi dkk. (2014) dengan beberapa modifikasi dari peneliti. Bakteri uji *Salmonella typhi* diambil dengan jarum ose, kemudian dibuat suspensi bakteri yang disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Bakteriosin dengan konsentrasi tertentu ditambahkan sebanyak 1 ml ke dalam suspensi bakteri *Salmonella typhi* sebanyak 0,1 ml. Selanjutnya dicampur rata dengan 9 ml akuades, kemudian di gores atau di swab pada media padat MHA. Diinkubasikan dalam suhu 37°C selama 24-48 jam. Pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari koloni yang tumbuh pada media dibandingkan dengan kontrol yang tersedia. Kontrol yang dipakai berupa kontrol media, kontrol bakteri uji, kontrol akuades dan kontrol bakteri dengan antibiotik.

Penentuan nilai KHM dan KBM dilakukan dengan metode goresan di cawan. KHM adalah konsentrasi terkecil yang dapat menghambat bakteri, ditandai dengan bakteri *Salmonella typhi* masih dapat tumbuh pada hasil goresan di cawan sedangkan KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri, ditandai dengan *Salmonella typhi* sudah tidak dapat tumbuh pada hasil goresan di

cawan yang menandakan masing-masing bakteri uji mati karena larutan uji dengan konsentrasi tersebut (Effendi dkk., 2014).

3.5.10 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan software SPSS versi 25. Data hasil penelitian diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Jika nilai p-value $> 0,05$ maka data terdistribusi normal. Uji homogenitas dengan *Lavene's Test*. Jika nilai p-value $> 0,05$ maka data homogen. Apabila data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan pada uji parametrik yaitu uji *One Way ANOVA*. Hasil analisis data dari uji *One Way ANOVA* menunjukkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Nilai p-value $< 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sedangkan nilai p-value $> 0,05$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan. Bila didapatkan perbedaan signifikan, uji *One Way ANOVA* dilanjutkan ke uji *Post-Hoc Duncan*.

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Genus BAL dari blondo VCO

Isolasi terduga mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Blondo VCO berhasil didapatkan 13 isolat dengan 8 isolat terindikasi mampu tumbuh pada media MRSA. Isolat yang telah dimurnikan kemudian dikarakterisasi berdasarkan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berupa bentuk morfologi meliputi bentuk koloni, warna, tepian, elevasi dan ukuran koloni. Romadhon (2012), mengemukakan bahwa pengamatan secara makroskopis pada morfologi koloni bakteri mencakup bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi dan warna koloni. Sedangkan, pengamatan mikroskopis mencakup pengamatan bentuk sel, susunan sel dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x.

4.1.1 Pengamatan Makroskopis

Hasil pengamatan pada Tabel 4.1 diketahui bahwa koloni yang diamati mempunyai tepian, elevasi, bentuk dan warna yang sama yaitu tepian rata, elevasi cembung, dengan bentuk bulat dan warna putih susu. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa semua isolat mempunyai ciri morfologi seperti ciri-ciri BAL. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sulmiyati *et al.* (2018), menyatakan bahwa koloni bakteri asam laktat memiliki ukuran diameter 0,5-2 mm, bentuk bulat, tepi rata, permukaan cembung, dan warna putih susu. Menurut Okfrianti dkk (2018), BAL adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat dan batang, tidak memproduksi spora, anaerob fakultatif, katalase negatif dan hasil metabolisme utama berupa asam laktat.

Tabel 4.1. Pengamatan Makroskopis Koloni Bakteri Blondo VCO

Kode Isolat	Pengamatan Makroskopis				
	Tepian	Elevasi	Bentuk	Warna	Ukuran (mm)
IS. 1	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	1,3
IS. 2	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	2,0
IS. 3	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	2,0
IS. 4	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	2,0
IS. 5	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	0,9
IS. 6	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	2,0
IS. 7	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	1,5
IS. 8	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	1,2
IS. 9	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	1,8
IS. 10	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	0,9
IS. 11	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	1,1
IS. 12	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	0,8
IS. 13	Rata	Cembung	Bulat	Putih Susu	2,0

4.1.2 Pengamatan Mikroskopis

Tabel 4.2. Pengamatan Mikroskopis Koloni Bakteri Blondo VCO

Kode Isolat	Bentuk	Gram	Endospora	Katalase	Uji Pembentukan Gas
IS. 1	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 2	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 3	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 4	<i>Bacil</i>	-	-	-	Tidak ada Gas
IS. 5	<i>Coccus</i>	-	-	-	Tidak ada Gas
IS. 6	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 7	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 8	<i>Bacil</i>	+	-	-	Ada Gas
IS. 9	<i>Bacil</i>	-	-	-	Tidak ada Gas
IS. 10	<i>Coccus</i>	+	-	-	Tidak ada Gas
IS. 11	<i>Bacil</i>	-	-	-	Tidak ada Gas
IS. 12	<i>Coccus</i>	+	-	-	Tidak ada Gas
IS. 13	<i>Bacil</i>	-	-	-	Tidak ada Gas

Pengamatan mikroskopis didasarkan pada pengamatan morfologi mencakup bentuk sel, susunan sel, warna Gram dan warna endospora yang diamati secara mikroskopis, serta uji katalase dan uji pembentukan gas. Proses identifikasi hanya dapat diidentifikasi pada tingkat genus, bukan pada tingkat spesies (Surono, 2004).

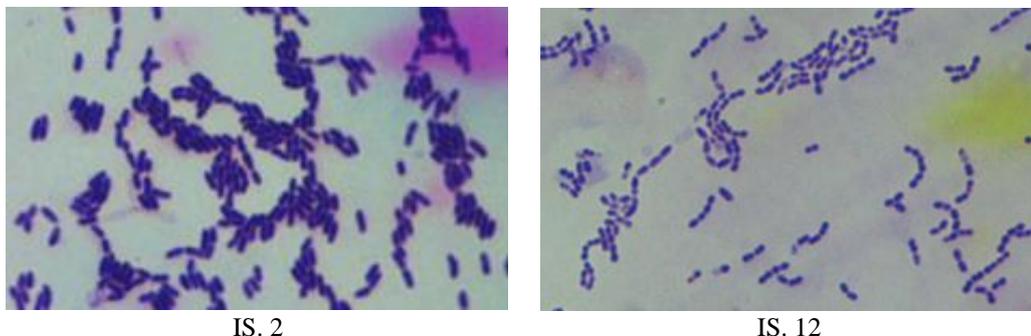
A. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk menentukan bakteri yang sedang di uji termasuk jenis bakteri Gram positif atau bakteri Gram Negatif. Isolat yang didapat berjumlah 13, diantaranya 8 termasuk bakteri Gram Positif dan 5 isolat lainnya termasuk bakteri gram negatif. Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri Gram positif. Pada gambar 4.1 nampak koloni bakteri berbentuk batang dari IS. 2 dan koloni bakteri bulat dari IS.12. Mustaqim dkk. (2014) mengemukakan bahwa pewarnaan gram bakteri akan mengalami dehidrasi ketika diberikan alkohol 96%, yang mengakibatkan pori-porinya akan mengkerut dan warna utama (Kristal violet) tidak bisa keluar, dikarenakan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis.

Bakteri Gram positif berwarna ungu diakibatkan lebih tebalnya dinding peptidoglikan daripada bakteri Gram negatif. Kristal violet mampu mempertahankan warna ungu karena adanya ikatan silang polisakarida oleh peptid yang menyusun dinding peptidoglikan. Penyerapan warna dari kristal violet di dalam sel akan bertahan walaupun dilakukan pencucian menggunakan larutan alkohol yang diharapkan dapat melunturkan cat warna yang ada sebelumnya. Kristal violet yang masih bertahan berwarna ungu didalam sel bakteri menyulitkan pewarna berikutnya untuk bisa terserap. Sehingga warna sel akan tetap berwarna

seperti pewarnaan yang dipakai pertama kali (Delvia dkk., 2015). Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari makromolekul kompleks, berupa peptidoglikan mengelilingi membran sitoplasma, yang terdiri dari glikopolimer lain yaitu asam teikoat atau polisakarida dan protein. Lapisan peptidoglikan yang tebal berfungsi sebagai resistensi bakteri terhadap lisozim yang dapat menyebabkan dinding sel bakteri lisis (Chartier *et al.*, 2014).

Waluyo (2008) menyatakan bakteri Gram positif memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Saat peluruhan dengan alkohol, pori-pori dinding sel menyempit karena terjadi dekolorisasi sehingga dinding sel tetap menahan kristal violet. Bakteri Gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel, sehingga lipid akan tercuci oleh alkohol dan pewarnaan kristal violet akan ikut tercuci. Bakteri Gram negatif saat diwarnai dengan safranin akan bewarna merah.



Gambar 4.1. Pewarnaan Gram, keterangan: IS. 2 Bakteri berbentuk batang dan IS. 12 bakteri berbentuk bulat, Gram positif, Perbesaran: 1000x.

Bentuk koloni pada 8 isolat berdasarkan hasil pengamatan melalui mikroskop dengan perbesaran 1000x nampak bentuk koloni berbentuk batang (basil) dan bulat (coccus) berwarna ungu yang diduga kandidat dari genus *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Hal ini sesuai pernyataan Putri dkk. (2018), bahwa BAL dari genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri antara lain bakteri Gram positif

dengan bentuk batang, koloni berwarna putih susu atau juga krem, dengan ukuran 0,5-1,2 x 0,5-1,5 mm. Penelitian Sari dkk. (2016) menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* hasil isolasi berbentuk batang membentuk pasangan (diplobasil) dan rantai pendek dari sel-selnya serta memiliki warna sel ungu. Rasyid dkk. (2021) berpendapat, bahwa karakter morfologi bakteri asam laktat genus *Streptococcus* berbentuk bulat yang tersusun seperti rantai. *Streptococcus* pada pengamatan oleh Vos *et al.* (2009) menunjukkan koloni *Streptococcus* berukuran 0,5-1,0 mm pada media dan hidup dalam kondisi aerob dan anaerob.

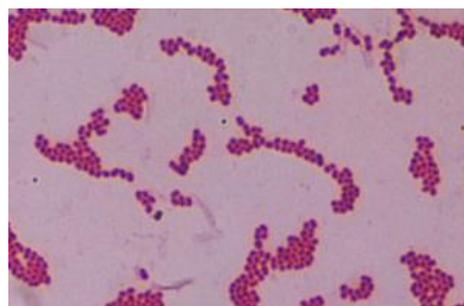
Pengujian gram pada isolat dalam media MRSA menunjukkan 5 isolat yang tergolong bakteri gram negatif. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya bakteri pembusuk yang tumbuh pada lingkungan sekitar selama proses fermentasi. Menurut Putri dan Kusdiyantini (2018) dalam penelitian isolasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) menyebutkan bahwa fermentasi tanpa penambahan inokulum menyebabkan bakteri pembusuk dapat tumbuh pada lingkungan sekitar, sehingga hasil produk inasua kurang baik. Kualitas produk ini dapat di perbaiki dengan cara penambahan *Pediococcus acidilactici* F11 sebagai kultur starter sehingga dapat meningkatkan total bakteri asam laktat (BAL) dan juga dapat menurunkan coliform pada inasua yang dihasilkan. Hal ini diperkuat oleh Rizky dkk. (2017) bahwa BAL di seleksi berdasarkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media MRSA yang ditambah CaCO_3 0.5%. Zona bening yang terbentuk menunjukkan koloni bakteri tersebut tergolong BAL, begitu pula sebaliknya koloni bakteri yang tidak membentuk zona bening tidak tergolong BAL.

B. Pewarnaan Endospora

Berdasarkan pewarnaan endospora yang telah dilaksanakan didapati bahwa bakteri uji termasuk jenis bakteri asam laktat, ditandai dengan endospora negatif yang nampak dari tidak terbentuknya spora, sehingga saat diberikan pewarna *malachite green* sel tidak berwarna hijau melainkan berwarna merah. Ciri-ciri tersebut menunjukkan bakteri uji termasuk jenis bakteri asam laktat. Menurut Wulandari & Desi (2019) Spora merupakan bentuk dari bakteri untuk mempertahankan diri dari kondisi yang kurang mendukung untuk kehidupan bakteri tersebut.



IS. 1



IS. 10

Gambar 4.2. Pewarnaan Endospora, Keterangan: IS.1 dan IS. 10, warna merah (negatif endospora). Perbesaran: 1000x.

Bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri katalase negatif, Gram positif, tidak memiliki spora, sehingga pada saat pewarnaan endospora yang terlihat hanya sel vegetatif ditandai dengan warna merah pada sel. Pratita & Putra (2012). Warna spora hijau disebabkan sel spora mengikat pewarna *malachite green* dan ketika diberikan pewarna safranin, sel spora tidak dapat berikatan dengan pewarna lain. Bakteri yang tidak memiliki spora cenderung tidak tahan terhadap pengecatan karena hanya memiliki sel vegetatif.

C. Uji Katalase

Pengujian katalase menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, sebagai indikator untuk mengetahui kemampuan BAL dalam memproduksi enzim katalase. Bakteri katalase positif, ditandai gelembung ketika ditetesi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2). Sebaliknya, bakteri katalase negatif ditandai dengan tidak adanya gelembung ketika ditetesi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Toelle & Lenda (2014), mengatakan bahwa positif katalase ditandai dengan munculnya gelembung udara (O_2). Isolat bakteri yang diuji pada 13 sampel menunjukkan hasil katalase negatif. Hal ini dibuktikan dari tidak terbentuknya gelembung gas saat pemberian cairan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% (Gambar 4.3). Hal ini sesuai dengan pendapat Lubis dkk. (2021), bahwa BAL termasuk katalase negatif dengan ditandai tidak terdapat gelembung udara, ketika ditetesi hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%.



IS. 8

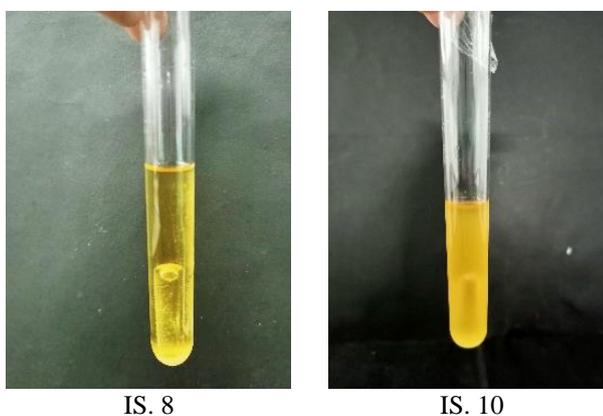
Gambar 4.3. Uji Katalase, Keterangan: negatif katalase

Finanda dkk. (2021) menyatakan bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak mampu menghasilkan enzim katalase karena bakteri asam laktat merupakan bakteri anaerob fakultatif yang menghasilkan enzim peroksidase yang akan memecah H_2O_2 menjadi senyawa organik dan H_2O , serta tidak menghasilkan

gelembung udara. Damayanti dkk. (2018) berpendapat bahwa reaksi positif uji katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung dari pembentukan gas oksigen (O_2) sebagai hasil pemecah H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tersebut. Uji katalase bertujuan untuk memastikan apakah isolat BAL yang dihasilkan katalase atau tidak.

D. Uji Pembentukan Gas

Bakteri asam laktat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan kelompok heterofermentatif. Pengamatan dilihat dengan terbentuknya gelembung udara pada tabung durham. Yanti & Dali (2013), menyatakan bahwa fermentasi heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan berbagai senyawa atau komponen lainnya, misalnya etanol, asetat, asam laktat dan karbodioksida.



Gambar 4.4. Uji Pembentukan Gas, Keterangan; IS. 8 terbentuk gas, IS. 10 tidak terbentuk gas

Berdasarkan uji produksi gas pada 8 isolat terduga BAL terdapat 2 bakteri bersifat homofermentatif dan 6 bakteri bersifat heterofermentatif. Menurut Surono, (2004) Bakteri homofermentatif tidak mampu menghasilkan gas CO_2 , karena tidak

memiliki enzim piruvat oksidase yang mampu mengkonversi piruvat menjadi CO₂ dan asetil fosfat dengan diikuti pembentukan H₂O₂.

E. Karakterisasi genus Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Bergey's 1994

Hasil karakterisasi yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa didapatkan 8 isolat terduga bakteri asam laktat, dengan 6 isolat merupakan genus *Lactobacillus* dan 2 lainnya merupakan genus *Streptococcus*. Genus *Lactobacillus* yakni isolat dengan kode IS. 1, IS. 2, IS. 3, IS. 6, IS. 7 dan IS. 8, dengan ciri-ciri termasuk Gram positif dengan koloni berbentuk batang, endospora negatif, katalase negatif dan terbentuk gas (heterofermentatif). Hal ini sesuai dengan penelitian Rasyid dkk. (2021) bahwa BAL yang berhasil diisolasi dari sampel blonde merupakan genus *Lactobacillus* dan genus *Streptococcus*.

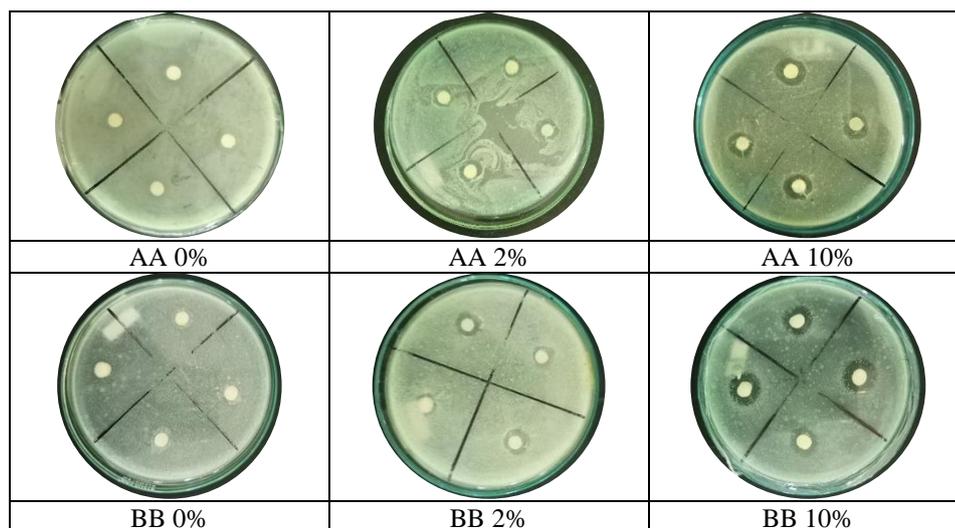
Ciri-ciri tersebut sesuai dengan buku *Bergey's* (1994) yang menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* memiliki sel berbentuk batang memanjang, tetapi terdapat pula yang berbentuk kokus berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 µm dan biasanya berantai pendek. Genus *Lactobacillus* termasuk bakteri Gram-positif, non-spora, tidak bergerak, berflagel peritrik dan anaerob fakultatif, tetapi juga bakteri aerob dan anaerob. Koloni pada agar biasanya berdiameter sekitar 2-5 mm, elevasi cembung, dengan tepi utuh serta tidak berpigmen. *Lactobacillus* dapat dibedakan menjadi kelompok yaitu bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Tumbuh pada suhu optimum sekitar 30-40°C.

Dua isolat lainnya merupakan genus *Streptococcus*. Genus *Streptococcus* yakni isolat dengan kode IS. 10 dan IS. 12, dengan ciri termasuk Gram positif dengan koloni bulat, endospora negatif, negatif katalase dan tidak membentuk gas (homofermentatif). Karakteristik tersebut sesuai dengan buku *Bergey's* (1994),

yang mengatakan bahwa genus *Streptococcus*, sel berbentuk bulat atau bulat telur, rantai pendek, tetapi ada juga yang rantai panjang. Genus *Streptococcus* termasuk Gram positif, bakteri non-motil, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif, namun beberapa termasuk aerobik. Ukuran koloni pada media agar biasanya kecil, kurang dari 1 mm. Fermentasi karbohidrat termasuk tipe homofermentatif, dengan asam laktat sebagai produk akhir.

4.2 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteriosin terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Isolat BAL yang digunakan dalam produksi bakteriosin adalah hasil isolasi dari blondo VCO. Isolasi BAL berhasil mendapatkan 8 isolat yang selanjutnya digunakan untuk memproduksi bakteriosin, yaitu isolat IS. 1, IS. 2, IS. 3, IS. 6, IS. 7 dan IS. 8 yang diambil salah satunya sebagai perwakilan dari genus *Lactobacillus* dengan kode AA, sedangkan isolat dengan kode IS. 10 dan IS. 12 yang diambil salah satunya sebagai perwakilan genus *Streptococcus* dengan kode BB. Metode yang digunakan adalah difusi cakram dan menggunakan bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 4.5. Uji zona hambat, terhadap bakteri *Salmonella typhi* dari bakteriosin: Isolat AA / *Lactobacillus*; Isolat BB / *Streptococcus*.

Hasil penelitian aktivitas antibakteri bakteriosin menunjukkan hasil yang positif, berupa terbentuknya zona hambat pada sekeliling kertas cakram (Gambar 4.5). Hasil *anova one-way* menunjukkan $P < 0,005$, hal ini menyatakan bahwa perbedaan konsentrasi bakteriosin sampel kode AA dan BB memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter zona hambat bakteri *Salmonella typhi*. Rerata zona hambat yang terbentuk dari bakteriosin isolat AA tersaji pada Tabel 4.3 dan isolat BB tersaji pada Tabel 4.4 dibawah ini.

Tabel 4.3. Zona Hambat Bakteriosin isolat AA terhadap *Salmonella typhi*

Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Keterangan
AA 0%	0 ^a	Lemah
AA 2%	3,5 ^b	Lemah
AA 4%	4,38 ^{bc}	Lemah
AA 6%	4,5 ^{bc}	Lemah
AA 8%	5,16 ^{cd}	Sedang
AA 10%	5,88 ^d	Sedang
Kontrol + (kloramfenikol)	13,75 ^e	Kuat

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan α 5%.

Tabel 4.4. Zona hambat Bakteriosin isolat BB terhadap *Salmonella typhi*

Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Keterangan
BB 0%	0 ^a	Lemah
BB 2%	2,38 ^b	Lemah
BB 4%	3,38 ^{bc}	Lemah
BB 6%	3,63 ^{bc}	Lemah
BB 8%	4 ^c	Sedang
BB 10%	7 ^d	Sedang
Kontrol + (kloramfenikol)	13,75 ^e	Kuat

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Duncan α 5%.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bakteriosin isolat AA maupun isolat BB pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% (v/v) mampu menghambat *Salmonella typhi*. Rerata zona hambat terbesar pada konsentrasi 10% dengan katagori sedang terbentuk sebesar 5,88 mm pada isolat AA dan 7 mm pada isolat BB. Untuk hasil terendah adalah konsentrasi 2% dengan katagori lemah terbentuk sebesar 3,5 mm pada isolat AA dan 2,38 mm pada isolat BB. Konsentrasi 0% pada isolat AA dan BB yang merupakan kontrol negatif berisi media MRSB menunjukkan tidak adanya pengaruh terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Hal ini sesuai dengan Datta dkk. (2019), bahwa aktivitas zona hambat antimikroba dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu : aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5- 10 mm), kuat (>10- 20 mm), sangat kuat (>20- 30 mm). Aktivitas daya hambat antimikroba dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm.

Bakteriosin *Lactobacillus* dan *Streptococcus* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri. Menurut Savira & Trimulyono (2020), bakteriosin merupakan protein dan bersifat antibakteri yang disintesis di ribosom, berspektrum luas dan berspektrum sempit. Umumnya bakteriosin memiliki berat molekul rendah yang masuk ke dalam sel target dengan mengikat reseptor permukaan sel. Mekanisme bakterisidal bakteriosin bervariasi, dapat berupa pembentukan lubang, terdegradasinya DNA sel, atau sintesis peptidoglikan yang terhambat (Todorov *et al*, 2011). Hal itulah yang membedakan bakteriosin dengan antibiotik.

Hasil pada Tabel 4.3 (Halaman 55) dan Tabel 4.4 (Halaman 55) mengindikasikan bahwa, secara umum semakin tinggi konsentrasi bakteriosin yang digunakan, maka semakin tinggi pula zona hambat yang akan terbentuk. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Fauziah dkk. (2015), bahwa semakin besar konsentrasi bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus*, maka semakin besar pula diameter daerah hambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* yang terbentuk. Firdaus dkk. (2020) menyatakan dalam hasil penelitiannya bahwa semakin meningkat konsentrasi bakteriosin *Lactobacillus gasseri* yang digunakan, maka semakin menurun jumlah koloni bakteri *Salmonella typhi* dan sebaliknya.

Daya hambat yang dihasilkan isolat bakteriosin dari blondo VCO tidak signifikan pada *Salmonella typhi*. Hal ini disebabkan karena *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif, sesuai dengan pernyataan Silhavy dkk. (2010), bakteri Gram negatif tersusun atas membran ganda dengan peptidoglikan yang tipis terletak antara membrane luar dan membrane dalam. Pada membran luar mengandung lipopolisakarida. Sehingga bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang lebih kuat dibandingkan bakteri Gram positif. Kandou dan Pandiangan (2018) mengatakan bahwa lapisan dinding sel bakteri gram negatif berupa lipoprotein, lipopolisakarida dan peptidoglikan. Membran luar pada dinding sel bakteri gram negatif menyebabkan bakteriosin susah untuk merusaknya (Abubakar dan Arpah, 2015).

Lingga dkk. (2015) mengatakan bahwa dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan berlapis serta tidak mengandung asam teikoat sebagai salah satu reseptor bakteriosin sehingga lebih resisten. Hal ini diperkuat oleh Hamidah dkk. (2019) bahwa dinding sel bakteri yang paling mudah terdenaturasi adalah

dinding sel yang tersusun dari polisakarida dibandingkan dengan yang tersusun dari fosfolipid. Dinding sel bakteri gram positif tersusun dari polisakarida, diantaranya mengandung peptidoglikan, asam teikoat dan asam teikuronat. Dinding sel bakteri gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid dan beberapa protein yang sering disebut sebagai *auto layer*.

Faktor lain yang mempengaruhi zona hambat yang terbentuk yaitu saat proses bakteriosin diproduksi. Faktor-faktor tersebut berupa jenis bakteri produser, kondisi fermentasi, pH produksi, suhu produksi, keberadaan enzim proteolitik dan komposisi nutrisi media pertumbuhan (Abubakar & Arpah, 2015). Menurut Prissilia dkk. (2019) proses sentrifugasi pada suhu dingin berguna untuk mencegah terjadinya denaturasi protein akibat suhu tinggi. Sedangkan, penyaringan pada bakteriosin bertujuan untuk membebaskan supernatan dari sel-sel bakteri yang tersisa dan sebagai proses sterilisasi, dikarenakan sel bakteri yang tersisa dapat mengkontaminasi supernatan yang dihasilkan.

Penelitian Sari dkk. (2016), menerangkan bahwa besarnya daerah hambatan pada zona jernih dipastikan bukan berasal dari asam-asam organik, karena supernatan antibakteri telah dinetralkan dengan larutan Natrium hidroksida (NaOH). Pertumbuhan bakteri patogen yang terhambat oleh bakteriosin disebabkan karena adanya interaksi elektrostatik bakteriosin yang bermuatan positif dengan lipid membran sitoplasma yang bermuatan negatif. Pada bagian hidrofobik bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma dengan membentuk pori. Menurut Sidabutar dkk (2015), aktivitas hambat bakteriosin dari fragmen bakteriosin (ekstrak murni) setelah pengendapan ammonium sulfat memiliki aktivitas hambat lebih besar dibandingkan dengan aktivitas hambat ekstrak

bakteriosin tanpa pengendapan. Intensitas kejernihan zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh kuantitas senyawa antibakteri yang diekskresikan.

4.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Blondo terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

KBM untuk bakteriosin dari *Lactobacillus* dan *Streptococcus* pada penelitian ini tidak dapat ditemukan, karena semua konsentrasi yang dikultur memperlihatkan pertumbuhan koloni *Salmonella typhi*. Bakteriosin dari *Lactobacillus* dan *Streptococcus* bersifat menghambat atau bakteriostatik pada konsentrasi 10%. Menurut Albab dkk. (2020), pembacaan KHM dan KBM dengan metode dilusi padat dinilai dengan melihat jumlah koloni yang tumbuh pada media padat. Koloni terendah yang dapat tumbuh menandakan nilai KHM, sedangkan media yang tidak ditumbuhi koloni bakteri menandakan nilai KBM.

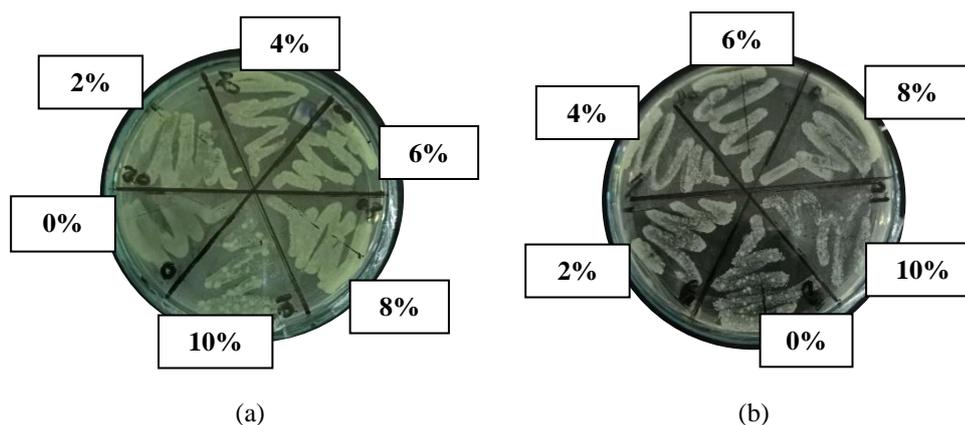
Tabel 4. 5. KHM Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

Perlakuan	Isolat AA				Isolat BB			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0%	+	+	+	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+	+	+	+
4%	+	+	+	+	+	+	+	+
6%	+	+	+	+	+	+	+	+
8%	+	+	+	+	+	+	+	+
10%	+	+	+	+	+	+	+	+
K. Antibiotik	-	-	-	-	-	-	-	-
K. Media	-	-	-	-	-	-	-	-
K. Aquadest	-	-	-	-	-	-	-	-
K. Bakteri	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: +: pertumbuhan *Salmonella typhi*; -: tidak ada pertumbuhan *Salmonella typhi*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Firdaus dkk. (2020), bahwa tidak ada konsentrasi bakteriosin *Lactobacillus gasseri* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* lebih dari 90%. Bakteriosin *Lactobacillus*

gasseri tidak memiliki efek bakterisidal, tetapi mempunyai efek bakteriostatik terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini terlihat dari semua konsentrasi yang dikultur memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 4.6. Uji KHM dan KBM, keterangan: (a) Isolat AA; (b) Isolat BB.

Perbedaan kemampuan bakteriosin dalam menghambat bakteri kemungkinan juga disebabkan oleh jenis bakteri uji yang digunakan. Biasanya bakteriosin bersifat antibakteri terhadap bakteri yang spesifik. Hal ini sesuai dengan Usmiati dkk. (2009), yang menyebutkan bahwa kemampuan bakteriosin dalam menghambat bakteri tergantung dari spesies bakteri penghasil bakteriosin dan jenis bakteri uji. Perbedaan aktivitas hambat dikarenakan bakteriosin mempunyai aktivitas hambat terhadap bakteri yang spesifik, dan biasanya mempunyai hubungan kekerabatan (filogenik) dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin tersebut. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella typhi* yang tidak memiliki hubungan kekerabatan terhadap golongan bakteri asam laktat.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi tidak berpengaruh terhadap perbedaan aktivitas penghambatan yang dihasilkan oleh BAL. Menurut

Kusmarwati dkk. (2014) bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tidak efektif dalam menghambat bakteri Gram negatif. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan adanya lapisan lipopolisakarida (LPS) dari dinding sel bakteri gram negatif yang melindungi membran sel, sebagai lokasi target bakteriosin. Konsentrasi penghambat bakteriosin yang dihasilkan dari kedua isolat kemungkinan disebabkan oleh adanya kompetisi nutrisi, asam laktat, diasetil, dan hidrogen peroksida.

Pernyataan tersebut dikuatkan oleh Falakh dan Asri (2022), menyatakan bahwa perbedaan aktivitas hambatan disebabkan berbagai macam faktor seperti pH, sumber karbon, temperatur dan fase pertumbuhan bakteri yang berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin. Sumber nutrisi seperti karbon dan nitrogen dalam media pertumbuhan bakteri berperan terhadap laju pertumbuhan sel BAL, sehingga akan mempengaruhi laju metabolisme produksi bakteriosin.

Falakh dan Asri (2022) berpendapat bahwa penghambatan *Salmonella typhi* dengan bakteriosin menggunakan pembentukan pori pada dinding dan membran sel, sehingga memudahkan masuk dan menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel. Lipid pada membran sel memiliki muatan negatif dijadikan sebagai reseptor utama oleh bakteriosin selama proses pembentukan pori, sehingga mengakibatkan terjadinya interaksi elektrostatik bakteriosin yang bermuatan positif dan bersifat hidrofobik terhadap gugus fosfat muatan negatif pada membran sel bakteri *Salmonella typhi*. Penetrasi bakteriosin melalui dinding sel dengan mengikat bakteriosin ke membran sel bakteri *Salmonella typhi* menyebabkan sel bakteri tidak kuat, karena adanya gangguan potensial membran berupa ketidakstabilan membran sitoplasma mengakibatkan terbentuknya pori pada

membran sel bakteri *Salmonella typhi*. Pori yang terbentuk akan menimbulkan kebocoran sel dan berpengaruh pada penurunan pH sel akibat efek yang ditimbulkan oleh bakteriosin yang mengubah gradien potensial membran dan pelepasan molekul intraseluler serta masuknya substansi ekstraseluler. Hal tersebut mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan menimbulkan kematian sel bakteri yang sensitif terhadap bakteriosin.

Pieterse & Todorov (2010) mengatakan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri gram positif dari BAL tidak aktif melawan bakteri gram negatif sebelum diberi perlakuan untuk meningkatkan integritas membran luarnya. Misalnya nisin, setelah diberi perlakuan dengan ETDA, sitrat dan laktat, terbukti efektif melawan *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli* 0157:H7. Sebaliknya, kolisin yang dihasilkan oleh Gram-negatif *Escherichia coli* secara alami aktif melawan strain *Escherichia coli* lain serta beberapa strain *Salmonella*. Mikrosin diproduksi oleh bakteri enterik, biasanya menargetkan strain dalam keluarga *Enterobacteriaceae*.

Ardilla dkk. (2022) menjelaskan bahwa bakteriosin *Lactobacillus* memiliki potensi untuk menjadi bakterisidal pada *Listeria monocytogenes* secara in vitro atau in vivo. Untuk mekanisme bakterisidal dapat berupa peningkatan fungsi perlindungan, efek imunomodulator serta antimikroba. Imunomodulator merupakan senyawa yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun dengan cara mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu (imunorestorasi), meningkatkan fungsi sistem imun (imunostimulan) dan menekan respon imun (imunopresi). Selain kelebihan tersebut, bakteriosin juga berpotensi untuk bahan

pengawet dan antibiotik alami yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif.

4.4 Kajian Integrasi Islam mengenai Aktivitas Antibakteri Bakteriosin Blondo VCO terhadap *Salmonella typhi*

Bakteriosin merupakan protein yang disintesis secara ribosomal dan bersifat bakterisidal terhadap bakteri lain yang mempunyai hubungan dekat dengan bakteri penghasilnya (Chotiah, 2013). Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari media apapun, salah satunya yaitu dari limbah pengolahan VCO yang umumnya tidak dimanfaatkan kembali dan dapat menimbulkan permasalahan lingkungan. Limbah endapan santan (blondo) memiliki kandungan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang tinggi dan dapat dimanfaatkan kembali, salah satunya sebagai penghasil bakteriosin. Kemampuan bakteriosin dalam menghambat bakteri patogen mampu menjadi alternatif antibiotik. Allah SWT. menjelaskan dalam QS: Ali-Imran [3]: 190- 191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190). (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan siasia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (191)"* (Kemenag RI).

Ayat 190 dalam Kitab tafsir Al-Mishbah menurut Quraish Shihab (2002) menegaskan mengenai kepemilikan Allah SWT atas alam semesta. Ayat ini

mengisyaratkan tentang tauhid, keesaan, dan kekuasaan Allah SWT. Hukum-hukum alam yang melahirkan kebiasaan-kebiasaan, pada hakikatnya ditetapkan dan diatur oleh Allah Yang Mahahidup lagi *Qayyum* (Maha Menguasai dan Maha Mengelola segala sesuatu).

Ayat 191 menegaskan bahwa penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang benar-benar merupakan tanda-tanda bagi *ulul albab*. *Ulul Albab* merupakan orang dengan akal sempurna lagi cerdas yang mengerti tentang hakekat dibalik adanya segala sesuatu yang tampak dan tetap mengingat Allah baik lisan maupun hati dalam segala situasi. Seluruh penciptaan Allah ini ditarik kesimpulan oleh *Ulul Albab* bahwa *Allah tidak menciptakan alam semesta dan segala isinya dengan sia-sia*. Apa yang terlihat atau terdengar terdapat kebaikan atau keburukan. Ayat-ayat diatas secara tidak langsung terkandung “*mu’amalah minallah*”. Hal ini ditunjukkan dengan tanda-tanda kekuasaan Allah yakni tentang penciptaan langit dan bumi, dimana dalam ayat tersebut dijelaskan bahwa seluruh ciptaan Allah, baik di langit maupun di bumi tidak ada yang sia-sia sehingga manusia perlu berpikir dan merenungkan segala ciptaan-Nya

Penelitian ini memanfaatkan konsep tersebut dengan mengambil limbah pengolahan VCO. Aroma menyengat dari tingginya kandungan protein pada blondo yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai media tumbuhnya. Protein dan peptida berukuran besar dalam pangan akan dihidrolisis menjadi asam amino dan peptida yang berukuran kecil oleh enzim protease, serta peptiase ekstraseluler mikroba. Produk metabolik beberapa asam amino berpengaruh terhadap kerusakan atau penurunan kualitas pangan, seperti terbentuknya bau yang tidak menyenangkan dan pembusukan bahan pangan (Febri, 2022). Apabila limbah

tersebut dibuang langsung ke suatu perairan, dapat menyebabkan terganggunya seluruh keseimbangan ekologi, juga dapat menyebabkan kematian ikan dan biota perairan lainnya. Untuk mengurangi masalah tersebut, limbah dimanfaatkan kembali untuk diambil Bakteri Asam Laktat (BAL) dan dilakukan pengujian potensi lainnya. BAL merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata secara langsung, tetapi pastinya memiliki fungsi tersendiri sebagaimana yang telah ditetapkan oleh Allah yang diterangkan dalam QS. Al-A'la [87]: 2-3:

الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى ۝ وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى ۝

Artinya: “yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya) (2), dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk (3)” (Kemenag RI).

Tafsir Al-Mishbah (Shihab, 2002), menerangkan mengenai keagungan Allah SWT. Allah SWT menciptakan semua makhluk dengan sempurna sesuai kadar masing-masing serta memberi petunjuk. Segala makhluk dapat melaksanakan tugas sesuai fungsi yang diberikan untuk dirinya, sesuai saat penciptannya. Hal ini dijelaskan pula dalam tafsir An-Nuur (Ash Shiddieqy, 2000) bahwa Allah SWT telah menentukan segala sesuatu sehingga setiap makhluk dapat memberikan manfaat kepada makhluk yang lain. Hal tersebut merupakan salah satu bentuk pandangan dari “*mua'amalah ma'a Alam*”, dimana diketahui bahwa pemanfaatan limbah blondo VCO dalam penelitian dapat memberikan dampak positif bagi lingkungan yakni mengurangi adanya pencemaran lingkungan.

Keseimbangan dan ketetapan sebagaimana makna ayat di atas dari sisi pengetahuan dapat dirasakan melalui ilmu mikrobiologi. Bakteri dengan bentuk kecil memiliki peran masing-masing, baik bersifat patogen maupun bersifat antibakteri. Pada penelitian ini, bakteri *Salmonella typhi* merupakan salah satu

bakteri patogen yang mengkontaminasi pangan. BAL yang dimanfaatkan sebagai bakteriosin dianggap mampu digunakan sebagai agen biopreservatif pangan, karena mampu mencegah terjadinya pembusukan pada makanan dengan cara menekan pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri penyebab pembusukan. Selain itu, bakteriosin mudah dicerna oleh enzim-enzim yang berada pada saluran pencernaan. Bakteriosin memiliki kemampuan stabil, tahan terhadap proses pembuatan makanan yang melibatkan kondisi pH yang rendah/tinggi, serta tahan terhadap panas dan dingin, mampu beradaptasi dengan lingkungan yang ditempatinya, dan tidak mengubah rasa (Mastuti dkk., 2022). Rasulullah SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

Artinya: “*Semua penyakit ada obatnya. Jika sesuai antara penyakit dan obatnya, maka akan sembuh dengan izin Allah*” (HR Muslim No. 2204).

Hadis di atas menguraikan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu dengan pelengkapannya. Allah tidak menurunkan penyakit kecuali dengan obatnya, seperti halnya penyakit. Pangan yang terkontaminasi patogen akan menimbulkan penyakit bagi tubuh, untuk itu manusia sebagai *Ulul Albab* ditugaskan agar mencari penyelesaian tersebut. Hal tersebut mendasari adanya penelitian ini untuk menemukan agen antibakteri. Tindakan ini merupakan penerapan konsep “*mua’amalah ma’a an-Naas*”. Salah satu agen antibakteri yang terdapat di alam yaitu bakteri asam laktat contohnya genus *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Bakteri tersebut berperan sebagai antibakteri berupa bakteriosin yang terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* penyebab pencemaran pada makanan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri asam laktat hasil isolasi dari blondo VCO berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis ditemukan 8 isolat, diantaranya 6 isolat genus *Lactobacillus* dan 2 isolat genus *Streptococcus*
2. Ekstrak Bakteriosin kasar dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* terbesar pada konsentrasi 10% sebesar 5,88 mm (sedang) untuk genus *Lactobacillus* dan 7 mm (sedang) untuk genus *Streptococcus*.
3. Ekstrak Bakteriosin kasar *Lactobacillus* dan *Streptococcus* menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) tidak ditemukan.

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam karakterisasi tingkat molekuler terhadap 8 isolat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada 8 isolat terhadap pemurnian dan karakterisasi bakteriosin agar menghasilkan zona hambat yang lebih besar.
3. Penentuan konsentrasi diharapkan dapat lebih optimal lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, & Arpah, M. 2015. Pengaruh suhu produksi terhadap aktivitas ekstrak kasar bakteriosin dari berbagai galur *Lactobacillus* sp. dalam menghambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Buletin Peternakan*, 39(3), 189-198.
- Afrizal, M., Fadarina, H. C., & Purnamasari, I. 2020. Pembuatan Bubuk Konsentrat Protein Kelapa (Blondo) Sebagai Susu Rendah Lemak Menggunakan Alat Pengering Beku Vakum. *KINETIKA*, 11(2), 31-37.
- Albab L. U., Husin, U. A., Azhali, B. A., Respati, T., & Astuti, R. D. I. 2020. Efek Antibakteri Ekstrak Akuades Buah Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) Varietas Ajwa terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Integrasi Kesehatan dan Sains*, 2(2).
- Ali, A. A. 2011. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Drinking Youghurt in Khartoum State, Sudan. *Current Research in Bacteriology*, 4(1), 16-22.
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253-257.
- Amiruddin, R. R., Darniati, D., & Ismail, I. 2017. Isolasi dan Identifikasi Salmonella sp pada Ayam Bakar di Rumah Makan Kecamatan Syiah Kuala Kota Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(3), 265-274.
- 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.
- Apriani, L., Rahmawati, R., & Kurniatuhadi, R. (2019). Deteksi Bakteri Salmonella dan Shigella Pada Makanan Burger di Sungai Raya Dalam Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8(3).
- Ardilla, Y. A., Anggreini, K. W., & Rahmani, T. P. D. 2022. Peran Bakteri Asam Laktat Indigen Genus *Lactobacillus* Pada Fermentasi Buah Durian (*Durio zibethinus*) Sebagai Bahan Pembuatan Tempoyak. *Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 42-52.
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., & Husmaini, H. 2017. Isolation And Identification Of Lactic Acid Bacteria From Okara And Evaluation Of Their Potential As Candidate Probiotics. *Pakistan Journal Nutrition*. 16(8): 618-628.
- Armita, D. 2014. Uji Daya Hambat VCO yang disuplementasi Metabolit BAL terhadap Bakteri Patogen. *SKRIPSI*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassa).
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., & Husmaini, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan J. Nutri*, 16, 618-628.

- Ash-Shiddieqy, Teungku M. Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Pustaka Rizki Putra. Semarang.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Chartier, Y. (Ed.). 2014. *Safe management of wastes from health-care activities Second edition*. Geneva: World Health Organization Press.
- Cho, Y. H., Hong, S. M., & Kim, C. H. 2013. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from kimchi, Korean traditional fermented food to apply into fermented dairy products. *Food Science of Animal Resources*, 33(1), 75-82.
- Chotiah, S. 2013. Potensi bakteriosin untuk kesehatan hewan dan keamanan bahan pangan. *Wartazoa*, 23(2), 94-101.
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R., Foeh, N. D., & Ndaong, N. A. 2019. Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. *Jurnal Kajian Veteriner*, 66-85.
- Damayanti, S. S., Komala, O., & Effendi, E. M. 2018. Identifikasi bakteri dari pupuk organik cair isi rumen sapi. *Ekologia*, 18(2), 63-71.
- Dewi, L. F., Sartini, S., & Rahmiati, R. 2019. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 1(1), 21-27.
- Delvia, F., Fridayanti, A., & Ibrahim, A. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 1, pp. 114-120).
- Effendi, F., Roswim, A. P., & Stefani, E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1-9.
- Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. 2015. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8 (3): 284-293.
- Fadila, D. S. R., Hasanati, J., Kusumawardhani, A. S., Rachman, M. F., Naufal, M. A., Febrian, F. W., Pikoli, M., & Sugoro, I. 2022. Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservasi pada Daging dan Olah: Tinjauan Potensi Hingga Industrinya. *Jurnal Pro-Life*, 9(1), 300-315.
- Falakh, M. F., & Asri, M. T. 2022. Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(3), 514-524.
- 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.

- Fatisa, Y. 2013. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1).
- Fauziah, P. N., & Nurhajati, J. 2015. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain ATCC 700603, CT1538, dan S941. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), 35-41.
- Febri, W. 2022. Pengaruh Konsentrasi Blondo Terhadap Beberapa Sifat Kimia Dan Sensoris Minasarua Minuman Khas Bima. *SKRIPSI*. Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram.
- Finanda, A., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. 2021. Isolasi Dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Daging Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Protobiont*, 10(2).
- Firdaus, M. R., Putra, A. E., & Abdiana, A. 2020. Potensi Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus Gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 1(3), 314-320.
- Güllüce, M., Karadayı, M., & Barış, Ö. 2013. Bacteriocins: promising natural antimicrobials. *Local Environ*, 3(6).
- Haerani, H. 2010. Pemanfaatan Limbah Virgin Coconut Oil (Blondo). *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia Universitas Hasanuddin*, 6(4), 27390.
- Hafsan, H. 2014. Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat Sebagai Biopreservatif Pangan. *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*, 8(2), 175-184.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. 2019. Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Handayani, N. I., Moenir, M., Setianingsih, N. I., & Malik, R. A. 2016. Isolasi bakteri heterotrofik anaerobik pada pengolahan air limbah industri tekstil. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 7(1), 39-46.
- Hardianto, D. 2019. Telaah Metode Diagnosis Cepat dan Pengobatan Infeksi *Salmonella typhi*. *Tangerang: Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, BPTT Gedung Laptiab*, 610-612.
- Hariani, L. 2013. Produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan aplikasinya sebagai pengawet daging. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 4(1).
- Hasan, A. & Wikandasi, P.R. 2018. Penentuan Waktu Produksi Optimum Bakteriosin Asal *Lactobacillus plantarum* B1765 berdasarkan Aktivitas Penghambatannya terhadap *Staphylococcus aureus*. *UNESA Journal of Chemistry*. 7(1):15-20.
- Hasanah, U., Sari, R., & Apridamayanti, P. 2019. Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus brevis* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran Farmasi Kalbar*, 4(1).
- Hidayat, nur, Irene Meitiniarti, Siswa Setyahadi, Usman Pato, Evi Susanti, Madiana C. Padaga, Agustin Krisna Wardani, Umi Purwandari 2018. *Mikrobiologi industri pertanian*. Malang : UB Press.

- Holt, J.G., Krieg, N.R., Peter, H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth edition*. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland. USA.
- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Al-Kaunyah Jurnal Biologi*, 7(1), 9-15.
- Husmaini. 2012. Potensi *Lactococcus plantarum* Isolat Limbah Pengolahan Virgin Coconut Oil (Blondo) Sebagai Probiotik dan Aplikasinya Untuk Meningkatkan Performans Unggas. *Artikel Disertasi*. Pascasarjana UNAND.
- Hutkins, Z.H. 2006. *Microbiology and technology of fermented foods*. Australia: Blackwell publishing Asia.
- Ikawikanti, A. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Salmonella spp. di Lingkungan Peternakan Ayam Broiler di Kota Malang* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. 2017. Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Istini, I. 2020. Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 41-46.
- Jufri, R. F. 2020. Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*, 1(1), 18-23.
- Juwaidin, J. 2018. Uji Potensi Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum* Sebagai Kandidat Probiotik Pada Unggas. *SKRIPSI*. Fakultas Peternakan Universitas Mataram.
- Kandou, F. E., & Pandiangan, D. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku diantun capillus-veneris dan *Asplenium nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal MIPA*, 7(1), 25-28.
- Kasi, P. D., Ariandi, A., & Mutmainnah, H. 2017. Uji antibakteri isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 5(3), 97-101.
- Kemenkes. 2020. *Pedoman pengendalian demam tifoid*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khalid, K. 2011. An overview of lactic acid bacteria. *International journal of biosciences (IJB)*, 1(3), 1-13.
- Khoiriyah, H., & Ardiningsih, P. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED₄. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(4), 52-56.
- Khotimah, H., Baniyah, L., Hanafi, I., Wardani, P. W. A., Sari, S. M. M., & Jannah, S. N. 2018. Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat yang Di Isolasi Dari Saluran Pencernaan Ayam Lokal Untuk Pembuatan VCO Secara Fermentasi. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 20(1), 35-39.
- Kulla, P. D. K., & Retnaningrum, E. 2019. Biochemical and Microbial Change in Food Fermentation'Ubi Karet Busuk'Sumba, East Nusa Tenggara, Indonesia. In *Proceedings of the 2019 6th International Conference on Bioinformatics Research and Applications* (pp. 24-27).

- Kurnianto, M. A., Rahmawati, R., & Munarko, H. 2022. Potensi, Keamanan Dan Tantangan Penerapan Bakteriosin Sebagai Agen Biopreservatif Pangan: Sebuah Telaah. *Jurnal Teknologi Pangan*, 16(1), 24-49.
- Kusmarwati, A., Arief, F. R., & Haryati, S. 2014. Eksplorasi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Rusip Bangka dan Kalimantan. *JPB Perikanan*, 9(1), 29-40.
- Kusumawati, A. 2007. Penurunan Kadar TSS (Total Suspended Solid) dan Minyak Lemak (Fatoil) Limbah Cair pada Pengolahan VCO (Virgin Coconut Oil) dengan Filtrasi Menggunakan Bed Karbon Aktif dan Kapuk. *SKRIPSI*. Universitas Islam Indonesia.
- Laily, I. N., Utami, R., & Widowati, E. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil Riboflavin dari produk fermentasi sawi asin. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 2(4), 179-184.
- Lingga, A. R., Pato, U., & Rossi, E. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa Faperta*, 2(2).
- Lubis, A., Natali, O., Arhamni, A., Masyitah, M., Ariyanto, A., Marpaung, H. H. H., & Panjaitan, L. 2021. Isolasi *Lactobacillus* sp dari susu segar kemasan dan uji antimikroba terhadap bakteri patogen *Salmonella* sp dan *Streptococcus* mutan. *Jurnal Prima Medika Sains*, 3(1), 18-22.
- Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin AgroBio*, 4(2), 24-32.
- Mandei, J. H. 2015. Pemanfaatan Blondo sebagai Starter dalam Pembuatan Yogurt. *Buletin Palma*, 16(1), 66-76.
- 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.
- Maromon, Y., & Pakan, P. D. 2020. Uji aktivitas anti bakteri minyak kelapa murni (virgin coconut oil) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 8(3), 250-256.
- Marhani, N. 2018. Identifikasi *Salmonella typhi* Pada Penderita Demam Tifoid Di Puskesmas Malili. *Voice of Midwifery*, 8(01), 734-743.
- Martinelly, E., Husmaini, H., Purwati, E., Zein, R., & Siagian, R. M. 2011. Efek Pemberian Blondo dalam Ransum terhadap Total Koloni *Lactobacillus* sp, *Salmonella* sp dan *Escherichia coli* pada Ileum Broiler. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 13(1), 16-20.
- Mastuti, S. 2022. Potensi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 25-30.
- Meziane, M., Dilmi, B. A., El, H. H., Boukrabouza, S., & Bensehaila, S. 2011. Lactic acid and hydrogen peroxide production by free and immobilization cells of two *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in a sugar molasses medium. *African Journal of Biotechnology*, 10(74), 16953-16962.
- Megasari, R., Biyatmoko, D., Ilham, W., & Hadie, J. 2012. Identifikasi keragaman jenis bakteri pada proses pengolahan limbah cair industri minuman dengan lumpur aktif limbah tahu. *EnviroScienteeae*, 8(2), 89-101.

- Murni, Y. 2006. Kajian potensi *Lactobacillus* sp. dari blondo (waste product *virgin coconut oil*) sebagai probiotik. *SKRIPSI*. Fakultas MIPA Universitas Andalas. Padang.
- Mustaqim, M., & Roza, R. M. 2014. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Pada Saluran Pencernaan Ikan Lais (*Kryptopterus Spp.*). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 1(2), 10.
- Murtius, W.S. 2008. Pemanfaatan blondo sebagai starter dalam pembuatan minuman probiotik. *THESIS*. Program Pasca Sarjana Universitas Andalas.
- Mustika, D. H., Nurjanah, S., & Ulvie, Y. N. S. 2019. Identifikasi Total Bakteri dan Keasaman Air Susu Ibu Perah (ASIP) yang disimpan di Cooler Bag. *Jurnal Gizi*, 8(1), 28-36.
- Noriko, N., Masduki, A., Azhari, R., & Nufianti, G. 2014. Uji In Vitro Daya Antibakterial *Virgin Coconut Oil* (VCO) pada *Salmonella typhi*. *JURNAL AL-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 2(3), 188-192.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Nurhikmayani, R., Daryono, B. S., & Retnaningrum, E. 2019. Isolation and molecular identification of antimicrobial-producing Lactic Acid Bacteria from chao, South Sulawesi (Indonesia) fermented fish product. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(4), 1063-1068.
- 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.
- Okfrianti, Y., Darwis, D., & Pravita, A. 2018. Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* C410LI dan *Lactobacillus rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 6(1), 49-58.
- Oliveira, M., & Serrano, I. (Eds.). 2015. *The Challenging of Antibiotic Resistance in the Development of New Therapeutics* (Vol. 1). Bentham Science Publishers.
- Permanasari, D. A. 2015. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm Bakteri *Salmonella typhi*. *SKRIPSI*. Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Jember.
- Pieterse, R., & Todorov, S. D. 2010. Bacteriocins: exploring alternatives to antibiotics in mastitis treatment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 542-562.
- Pradana, I. P. E., Dewi, S. S., & Wilson, W. 2018. Aktivitas Kefir dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus* (Vol. 1).

- Pramudyanti, I. R., Purwoko, T. J. A. H. J. A. D. I., & Pangastuti, A. R. T. I. N. I. 2004. Pengaruh pengaturan pH dengan CaCO_3 terhadap produksi asam laktat dari glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi*, 1(1), 19-24.
- Pratita, Maria Yuli Endah dan Putra, Surya Rosa. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-5.
- Pratiwi, S, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Pratiwi, S. T., Paryati, S. P. Y., Raja, E. N. L., & Andana, P. 2022. Perbandingan Efektivitas Bakteriosin *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 Dengan Nisin Pada Pertumbuhan *Salmonella typhi* ATCC 6539. *Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 5(2), 162-174.
- 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).
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Putri, Y. W., Putra, A. E., & Utama, B. I. 2018. Identifikasi dan karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari vagina wanita usia subur. *Jurnal kesehatan andalas*, 7, 20-25.
- Purwohadisantoso, K., Zubaidah, E., & Saprianti, E. 2009. Isolation of Lactic Acid Bacteria from Cabbage and Their Potensial Inhibition to Pathogenic Bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 10(1).
- Qonita, S. B., Johan, V. S., & Rahmayuni, R. 2018. Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Nira Aren Terfermentasi Spontan. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*, 5(1), 1-12.
- Rahmadi, A., Abdiah, I., Sukarno, M. D., & Purnaningsih, T. 2013. Karakteristik Fisikokimia dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat. *J. Teknol dan Industri Pangan*, 24(2), 178-183.
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. 2021. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Blondo *Virgin Coconut Oil* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56-67.
- Retnaningrum, E., Yossi, T., Nur'azizah, R. I. N. I., Sapalina, F., & Kulla, P. D. K. 2020. Characterization of a bacteriocin as biopreservative synthesized by indigenous lactic acid bacteria from dadih soya traditional product used in West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9).
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S. H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. 2022. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(1), 1-7.
- Rizky, M. Y., Fitri, R. D., Hastuti, U. S., & Prabaningtyas, S. 2017. Identifikasi Uji Kemampuan Hidrolisis Lemak Dan Penentuan Indeks Zona Bening Asam Laktat Pada Bakteri dalam Wadi Makanan Traditional Kalimantan Tengah. *Jurnal Bionature*, 18(2), 87-98.

- Robinson, R. K. 2014. *Encyclopedia of food microbiology*: second edition. London: Academic press.
- Romadhon, S., Subagiyo, & Margino, S. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari usus udang penghasil bakteriosin sebagai agen antibakteria pada produk-produk hasil perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1).
- Rukmana, B. F., Husen, L. M. S., & Aini, H. U. N. 2022. Pengaruh Pemberian Kompres Hangat terhadap Penurunan Suhu Tubuh pada Anak yang Terkena Typhoid Fever. *Nursing Information Journal*, 1(2), 81-89.
- Sari, R., Deslianri, L., & Apridamayanti, P. 2016. Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari MinumanCe Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2), 4.
- Safitri, A.U. 2016. Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Kitosan Berbasis Cangkang Lobster terhadap Bakteri. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. SKRIPSI. FPIK IPB. Bogor.
- Safitri, N., Sunarti, T. C., Meryandini, A. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 31-38.
- Santosa, E. A., & Retnaningrum, E. 2020. Karakterisasi Fenotipik dan Aktivitas Antimikrobia Bakteri Asam Laktat dari Limbah Produksi Tempe. *Jurnal Sains Dasar*, 9(1), 1-10.
- Sarkono, S. A. R. K., & Julisaniah, N. I. 2010. Uji Keberadaan Dan Viabilitas Sel *Lactobacillus Bulgaricus* Pada Pembuatan Vco Fermentasi Yang Berfungsi Probiotik. *Jurnal Pijar Mipa*, 5(1).
- Savira, H. G., & Trimulyono, G. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Diisolasi dari Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) Terhadap *Escherichia coli* FNCC 0091 dan *Staphylococcus aureus* FNCC 0047. *Lentera Bio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(3), 347-355.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian AlQur'an*. Lentera Hati. Jakarta.
- Shavira, A. 2022. Kajian Pustaka: Aktivitas Antibakteri Dari Bakteriosin *Lactobacillus* Spp. Terhadap Bakteri Resistan. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(1), 60-72.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al Mishbah: pesan, kesan dan keserasian Al-Quran*. Jakarta : PT Lentera Hati. Hlm 147-148, 370-373.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. 2010. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(5), a000414.
- Sidabutar, A. R., & Dahliaty, A. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteriosin Dari Bakteri Probiotik Yang Diisolasi Dari Udang Windu (*Penaeus Monodon Fabricus*) Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. *Universitas Riau. Pekanbaru*, 114.
- Suardana, I Wayan, Hendro Sukoco, dan Nyoman Semadi Antara. 2018. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 18A Secara Fenotipik. *Buletin Veteriner Udayana*. 10(1): 1-9.
- Sumual, A., Fatimawali, F., & Tallei, T. E. 2019. Uji Antibakteri dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Selada Romain (*Lactuca sativa* var. Longifolia Lam.). *PHARMACON*, 8(2), 306-314.

- Surono, I. S. 2016. *Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional*. Yogyakarta: CV. Budi Utama.
- Sulistiani, S. 2017. Senyawa Antibakteri yang Diproduksi oleh *Lactobacillus plantarum* dan Aplikasinya untuk Pengawetan Bahan Ikan. *Jurnal Biologi Indonesia*, 13(2).
- Sulistijowati, R., & Mile, L. 2015. Efektivitas Penghambatan Filtrat Asam Laktat *Lactobacillus* Sp. Hasil Isolasi Dari Usus Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Terhadap Bakteri Patogen. In *Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan V* (pp. 363-366).
- Sulmiyati, Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Maruddin, F. 2018. The characteristics of lactic acid bacteria isolated from Indonesian commercial kefir grain. *Malays. J. Microbiol.*, 14(7), 632-639.
- Surbakti, F., & Hasanah, U. 2019. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Acar Ketimun (*Cucumis sativus* L.) sebagai Agensi Probiotik. *Jurnal Teknologi Pangan dan Kesehatan (Journal of Food Technology And Health)*, 1(1), 31-37.
- Surono, I. S. 2004. Probiotik susu fermentasi dan kesehatan. *YAPMMI, Jakarta*.
- Suryani, M. S. 2020. *Virgin Coconut Oil: Bakteri Asam Laktat dan Bakteriosin*. Unitomo Press.
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. 2010. Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- Suwayvia, N. 2017. Produksi Bakteriosin asal *Lactobacillus Plantarum* FNCC 0020 sebagai antimikroba dan stabilitasnya pada variasi suhu pemanasan, suhu penyimpanan dan PH. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Todorov, S. D., Rachman, C., Fourrier, A., Dicks, L. M., Van Reenen, C. A., Prevost, H., & Dousset, X. 2011. Characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus sakei* R1333 isolated from smoked salmon. *Anaerobe*, 17(1), 23-31.
- Toelle, N., & Lenda, V. 2014. Identification and characteristics of *Staphylococcus* Sp. and *Streptococcus* Sp. Infection of ovary in commercial layers. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(7), 32-37.
- Tortora, G.J., B.R. Funke, dan C.L. Case. 2010. *Microbiology an Introduction*. San Fransisco: Addison Wesley Longman Inc.
- Ugboko, H., & De, N. 2014. Mechanisms of Antibiotic resistance in *Salmonella typhi*. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(12), 461-76.
- Urnemi, Syukur, S., Purwati, E., & Ibrahim, S. 2011. Potensi Bakteri Asam Laktat Dalam Menghasilkan Bakteriosin Sebagai Antimikroba Dan Pengukuran Berat Molekulnya Dengan Sds-Page Dari Isolat Fermentasi Kakao. *Jurnal Riset Kimia*, 4(2), 94-94.
- Usman N. A., Suradi, K., & Gumilar, J. 2018. Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayonnaise Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 18(2), 79-85.

- Usmiati, S., Miskiyah, & Maheswari, R. R. A. 2009. Pengaruh penggunaan bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. galur SCG 1223 terhadap kualitas mikrobiologi daging sapi segar. *JITV*, 14 (2), 150-166.
- Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer K-H, Whitman W (ed). 2009. *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes* (Vol. 3). London: Springer Science & Business Media.
- Waluyo, L. 2008. *Teknik dan metode dasar dalam mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Wardhani, A. K., Uktolseja, J. L., & Djohan, D. 2020. Identifikasi Morfologi dan Pertumbuhan Bakteri pada Cairan Terfermentasi Silase Pakan Ikan. *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek) Ke-5*.
- WHO. 2018. *Typhoid*. World Health Organization.
- Widiastuti, R., Nurhaeni, F., Marfua, L. D., & Wibowo, S. G. 2016. Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb.). *Jurnal. Yogyakarta: Farmasi Poltekkes Bhakti Setya Indonesia*.
- Widodo. 2019. *Bakteri asam laktat strain lokal*. Yogyakarta : UGM press
- Wijana, S., Gadizza, C., & Tiaraningtyas, R. 2018. Hidrolisis Protein Konsentrat Blondo Limbah Hasil Produk *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai Bahan Baku Penyedap Makanan. *PROSIDING SEMHAS LPPM UNSOED*, 8(1), 314-325.
- Wikandari, P. R., Suparmo, S., Marsono, Y., & Rahayu, E. S. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 120-125.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. 2019. Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi *Colocasia esculenta* L. secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258.
- Yanti, D. I. W. & Dali, F. A. 2013. Karakterisasi bakteri asam laktat yang diisolasi selama fermentasi bakasang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(2).
- Yeni, A. M., & Sunarti, T. C. 2016. Penggunaan substrat whey tahu untuk produksi biomassa oleh *Pediococcus pentosaceus* E. 1222. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 26(3).
- Zakariah, M. A., Malaka, R., Laga, A., & Ako, A. 2019. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dangke a White Soft Traditional Cheese from Enrekang Regency. *International Journal of Recent Technology and Engineering*, 8(2), 4148-4151.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Konsentrasi Larutan Bakteriosin

$$\text{Konsentrasi 0\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{0 \text{ ml}}{9 \text{ ml}} \times 100\% = 0\%$$

$$\text{Konsentrasi 2\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{0,2 \text{ ml}}{9,2 \text{ ml}} \times 100\% = 2\%$$

$$\text{Konsentrasi 4\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{0,4 \text{ ml}}{9,4 \text{ ml}} \times 100\% = 4\%$$

$$\text{Konsentrasi 6\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{0,6 \text{ ml}}{9,6 \text{ ml}} \times 100\% = 6\%$$

$$\text{Konsentrasi 8\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{0,8 \text{ ml}}{9,8 \text{ ml}} \times 100\% = 8\%$$

$$\text{Konsentrasi 10\%} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml zat larutan}} = \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 10\%$$

Lampiran 2. Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

• **Isolat AA**

AA	0 %	2 %	4 %	6 %	8 %	10 %	K +
1	0	4	4,5	4,5	4,5	6	14
2	0	3,5	4	4	6	6,5	12
3	0	4	3,5	4	4,5	5	15
4	0	2,5	5,5	5,5	5,5	6	14
Rata-Rata	0	3,5	4,3	4,5	5,125	6	13,75
Ket.	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	sedang	Sedang	Kuat

• **Isolat BB**

BB	0 %	2 %	4 %	6 %	8 %	10 %	K +
1	0	2	2	5	3	8	14
2	0	2,5	4	2,5	4	6,5	12
3	0	2	4	3	4,5	7,5	15
4	0	3	3,5	4	4,5	6	14
Rata-Rata	0	2,375	3,375	3,625	4	7	13,75
Ket.	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Sedang	Kuat

Lampiran 4. Uji Anova dan Uji Lanjut Ducan Antibakteri Bakteriosin Isolat AA terhadap *Salmonella typhi*

- Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
zona_hambat	konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	AA 0%	.	4	.	.	4	.
	AA 2%	,260	4	.	,827	4	,161
	AA 4%	,192	4	.	,971	4	,850
	AA 6%	,260	4	.	,827	4	,161
	AA 8%	,298	4	.	,849	4	,224
	AA 10%	,329	4	.	,895	4	,406
	Kontrol positif	,329	4	.	,895	4	,406

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances				
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
zona_hambat	Based on Mean	1,543	6	21	,213	
	Based on Median	,860	6	21	,540	
	Based on Median and with adjusted df	,860	6	10,484	,553	
	Based on trimmed mean	1,460	6	21	,240	

- Uji Anova Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

ANOVA

zona_hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	418,357	6	69,726	114,283	,000
Within Groups	12,813	21	,610		
Total	431,170	27			

- Uji Lanjut DMRT Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

Zona_Hambat

		Subset for alpha = 0.05					
Duncan ^a	konsentrasi	N	1	2	3	4	5
	AA 0%	4	,000				
	AA 2%	4		3,500			
	AA 4%	4		4,375	4,375		
	AA 6%	4		4,500	4,500		
	AA 8%	4			5,125	5,125	
	AA 10%	4				5,875	
	Kontrol positif	4					13,750
	Sig.		1,000	,100	,213	,189	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran 5. Uji Anova dan Uji Lanjut Ducan Antibakteri Bakteriosin Isolat BB terhadap *Salmonella typhi*

- Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat	BB 0%	.	4	.	.	4	.
	BB 2%	,283	4	.	,863	4	,272
	BB 4%	,303	4	.	,791	4	,086
	BB 6%	,214	4	.	,963	4	,798
	BB 8%	,260	4	.	,827	4	,161
	BB 10%	,208	4	.	,950	4	,714
	Kontrol +	,329	4	.	,895	4	,406

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances				
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
zona_hambat	Based on Mean	2,106	6	21	,096	
	Based on Median	1,168	6	21	,360	
	Based on Median and with adjusted df	1,168	6	10,356	,392	
	Based on trimmed mean	1,953	6	21	,119	

- Uji Anova Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

ANOVA

zona_hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	471,500	6	78,583	104,364	,000
Within Groups	15,813	21	,753		
Total	487,313	27			

- Uji Lanjut DMRT Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

Zona_Hambat

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
BB 0%	4	,000				
BB 2%	4		2,375			
BB 4%	4		3,375	3,375		
BB 6%	4		3,625	3,625		
BB 8%	4			4,000		
BB 10%	4				7,000	
Kontrol +	4					13,7500
Sig.		1,000	,066	,347	1,000	1,000

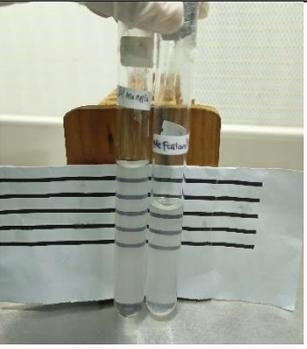
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

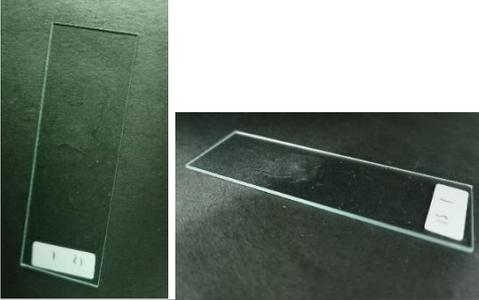
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

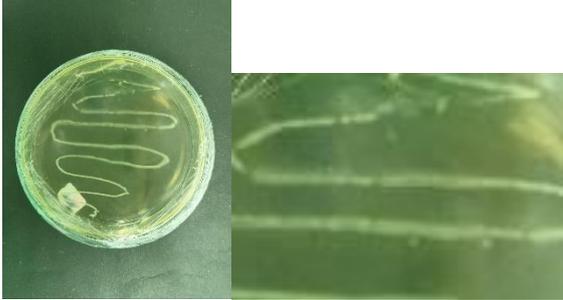
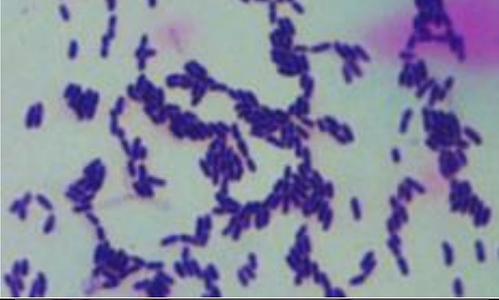
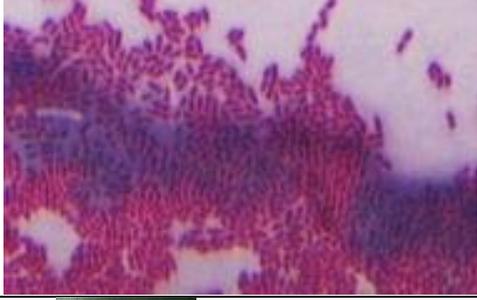
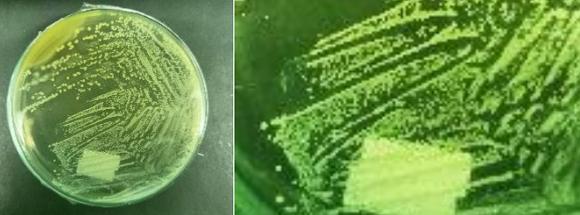
Foto	Keterangan
	<p>Sampel limbah Blondo VCO dalam wadah aseptis</p>
	<p>Pembuatan Media MRSA + CaCO₃ 1%. Ditimbang media MRSA sebanyak 6.82 gr dan CaCO₃ 0.2 gr, lalu ditambahkan dengan akuades sebanyak 100 ml. Kemudian dipanaskan menggunakan hot plate sampai homogen dan disterilisasi menggunakan autoklaf.</p>
	<p>Pengenceran sampel blondo dengan 9 ml NaCl 0,9% dan 1 ml sampel secara duplo dari 10⁻¹ hingga 10⁻⁶.</p>
	<p>Diambil 3 seri pengenceran terakhir sebanyak 1ml, dipipet ke cawan petri secara duplo.</p>
	<p>Hasil pemurnian dari isolasi limbah blondo VCO</p>

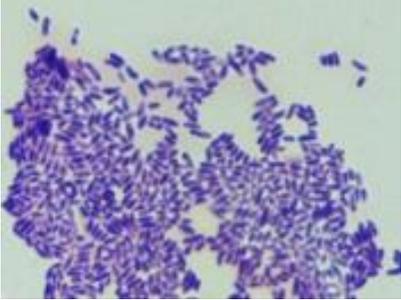
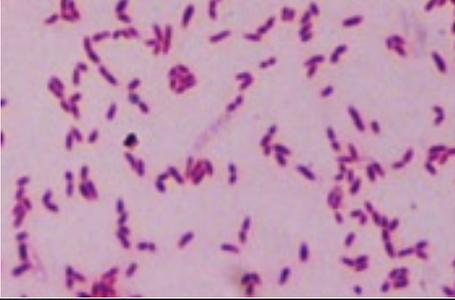
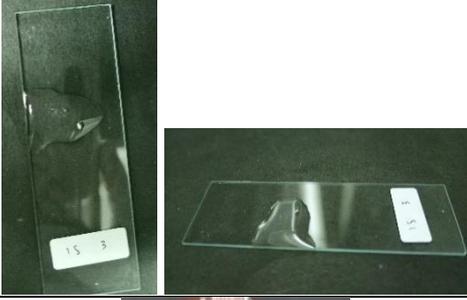
Foto	Keterangan
	<p>Karakterisasi isolat yang telah murni, meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase dan uji pembentukan gas.</p>
	<p>Inokulum BAL setelah difermentasi (Produksi bakteriosin).</p>
	<p>Ekstrak bakteriosin sebelum disentrifuge.</p>
	<p>Ekstrak bakteriosin setelah disentrifuge dan telah disaring.</p>

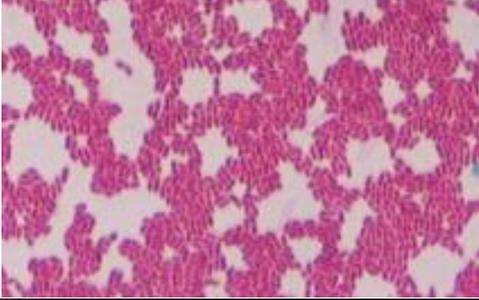
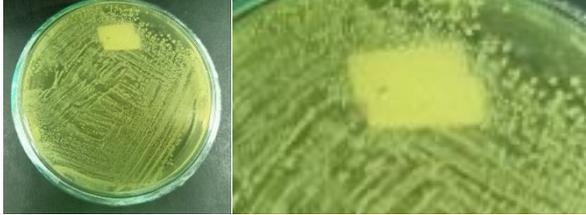
Foto	Keterangan
	
	<p>Penetralan ekstrak bakteriosin dari pH asam ke pH netral pH 7.</p>
	<p>Inokulum bakteri uji.</p>
	<p>Uji aktivitas bakteriosin terhadap bakteri uji.</p>
	<p>Pengujian KHM dan KBM bakteriosin terhadap bakteri uji.</p>

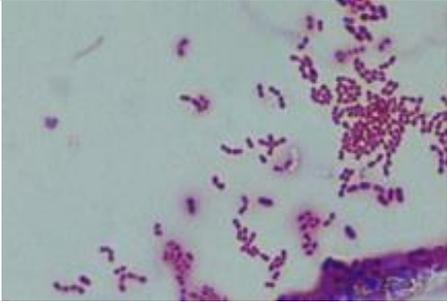
Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Karakteristik BAL dari Blondo VCO

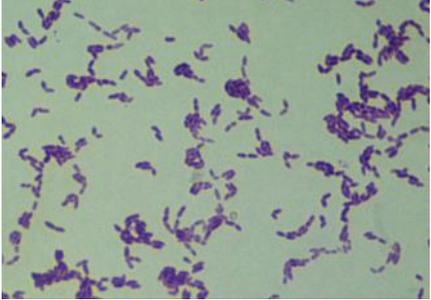
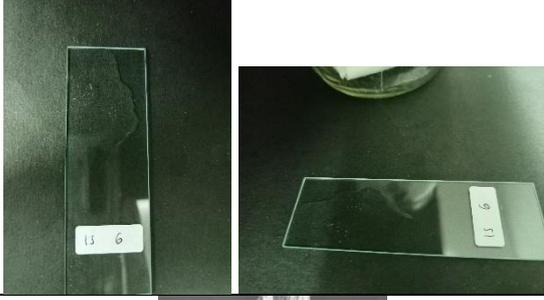
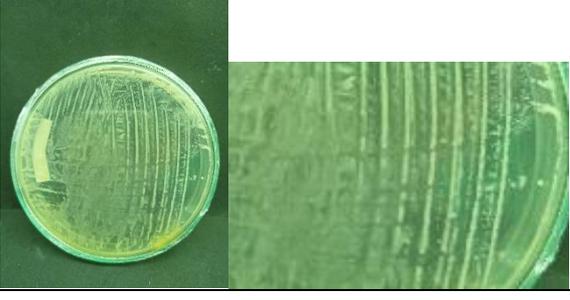
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		
IS. 1		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
IS. 1		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>

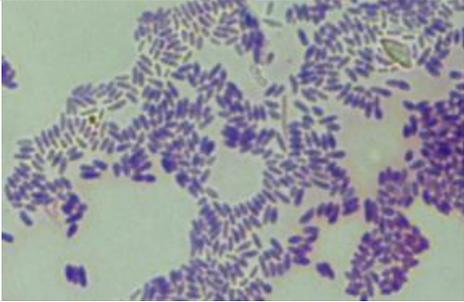
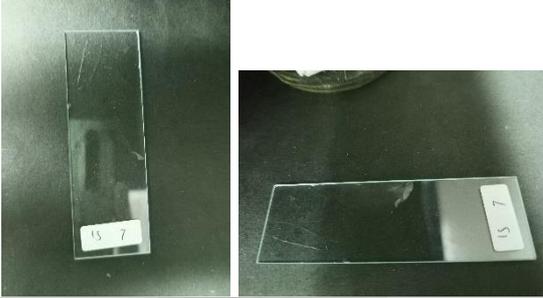
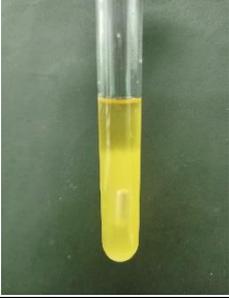
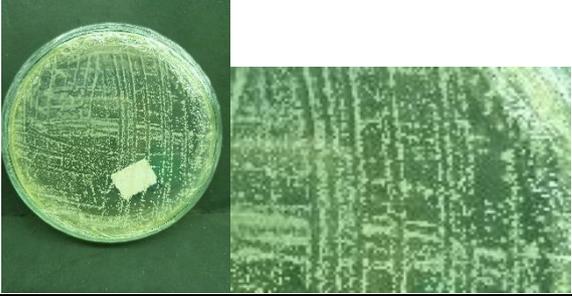
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		
IS. 2		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
IS. 2		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>
IS. 3		

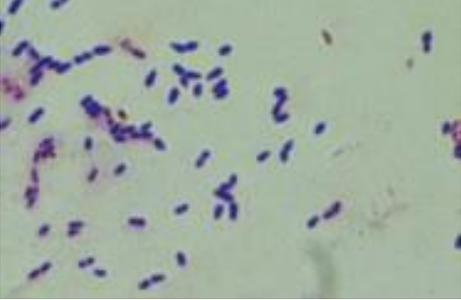
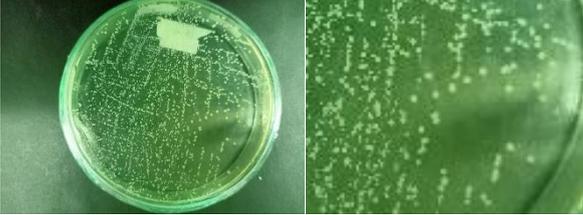
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>
IS. 4		

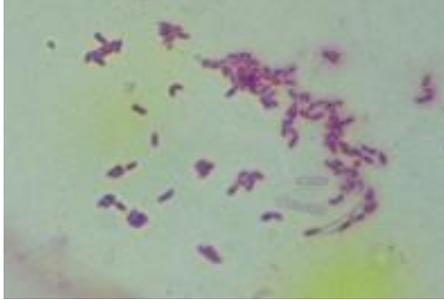
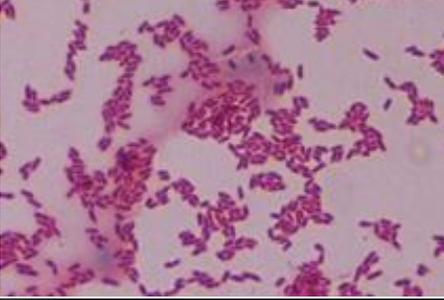
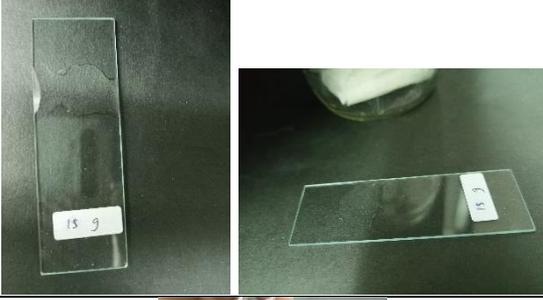
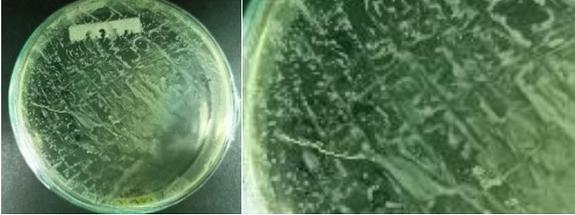
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Merah • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas</p>
IS. 5		

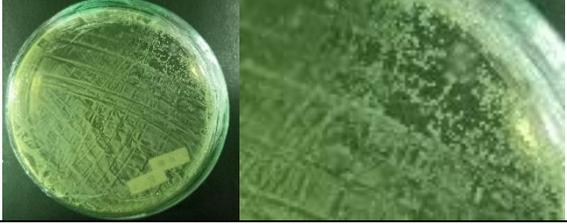
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Merah • Bentuk koloni Bulat • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas</p>
IS. 6		

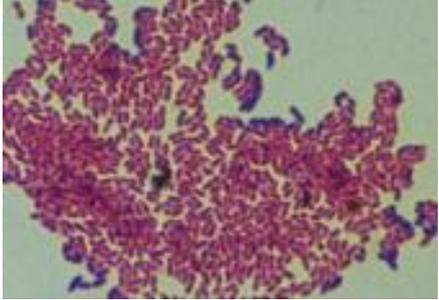
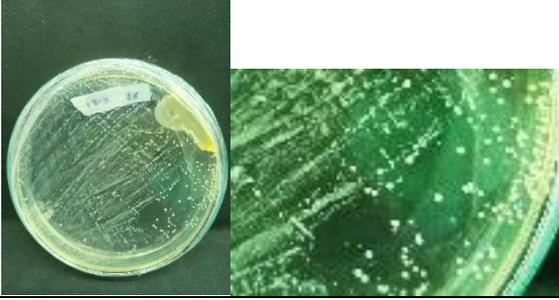
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>
IS. 7		

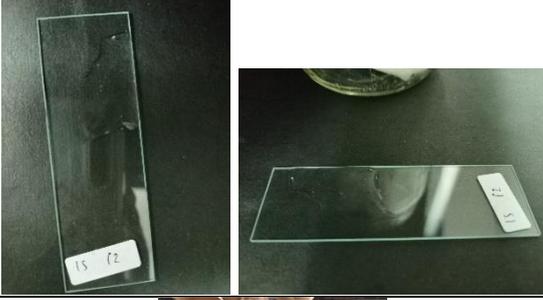
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>
IS. 8		

Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Terbentuk Gas (Heterofermentatif)</p>
IS. 9		

Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Merah • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas</p>
IS. 10		

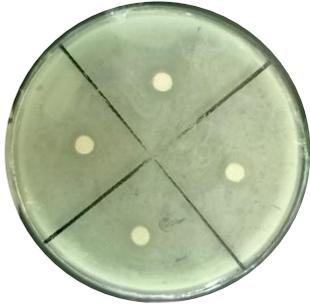
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Bulat • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas (Homofermentatif)</p>
IS. 11		

Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Merah • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas</p>
IS. 12		

Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Ungu • Bentuk koloni Bulat • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas (Homofermentatif)</p>
IS. 13		

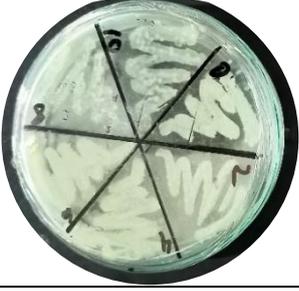
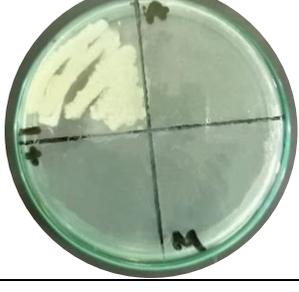
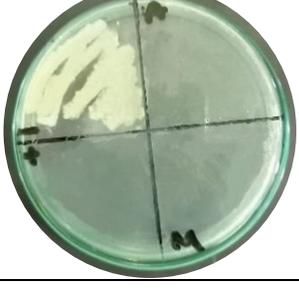
Kode Isolat	Gambar	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> • Pewarnaan Gram Merah • Bentuk koloni Batang • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Pewarnaan Endospora Merah</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikroskop perbesaran 1000X
		<p>Uji Katalase Negatif</p>
		<p>Tidak Memproduksi Gas</p>

Lampiran 8. Dokumentasi Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap *Salmonella typhi*

Kode Isolat	Gambar	Kode Isolat	Gambar
AA 0%		BB 0%	
AA 2%		BB 2%	
AA 4%		BB 4%	
AA 6%		BB 6%	

Kode Isolat	Gambar	Kode Isolat	Gambar
AA 8%		BB 8%	
AA 10%		BB 10%	
Kontrol +		Kontrol +	

Lampiran 9. Dokumentasi Hasil Uji KHM dan KBM terhadap *Salmonella typhi*

Ulangan	Isolat AA	Isolat BB
1		
2		
3		
4		
Kontrol		

Keterangan:

- : bakteri *Salmonella typhi*)

+ : Kontrol Antibiotik Kloramfenikol

M : Kontrol media MHA

A : Kontrol akuades

Lampiran 10. Komposisi Media

- **MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Agar**

Bahan	Jumlah
Dextrose	20 gram
Bacteriological peptone	10 gram
Beef extract	8 gram
Sodium acetate	5 gram
Yeast extract	4 gram
Dipotassium phosphate	2 gram
Ammonium citrate	2 gram
Tween 80	1 gram
Magnesium sulfate	0,2 gram
Manganese sulfate	0,05 gram
Bacteriological agar	10 gram
pH akhir	5 - 6,5

- **MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Broth**

Bahan	Jumlah
Proteose peptone	10 gram
HM Peptone B#	10 gram
Dextrose	20 gram
Sodium acetate	5 gram
Yeast extract	5 gram
Dipotassium phosphate	2 gram
Ammonium citrate	2 gram
Tween 80	1 gram
Magnesium sulfate	0,1 gram
Manganese sulfate	0,05 gram
Final pH (at 25°C)	6.5 ± 0.2

- **MHA (*Mueller Hinton Agar*)**

Bahan	Jumlah
<i>Beef Extract</i>	2 gram
<i>Acid Hydrolysate of Casein</i>	17,5 gram
<i>Starch</i>	1,5 gram
<i>Agar</i>	17 gram
<i>Aquadest</i>	1 liter
Nilai Akhir pH	7,3 ± 0,1 pada suhu 25°C

Lampiran 11. Kartu Konsultasi Pembimbing I



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi
NIM : 18620007
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2022/2023
Pembimbing : Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P.
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil serta Uji Antimikroba terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	09/11/2021	Pengajuan Topik Penelitian	
2.	27/12/2021	Pengajuan Topik Penelitian	
3.	10/01/2022	Konsultasi Topik Penelitian	
4.	27/01/2022	Pengumpulan BAB I	
5.	31/01/2022	Konsultasi BAB I	
6.	07/02/2022	Pengumpulan revisi BAB I dan pengumpulan BAB III	
7.	24/02/2022	Konsultasi BAB I, III	
8.	24/03/2022	Pengumpulan revisi BAB I dan pengumpulan BAB III	
9.	25/03/2022	Konsultasi BAB I, II, III & Acc Proposal Skripsi	
10.	04/07/2022	Konsul BAB III	
11.	28/09/2022	Konsul BAB IV	
12.	27/10/2022	Konsultasi BAB III, IV dan V	
13.	31/10/2022	Konsul dan Revisi BAB IV	
14.	03/11/2022	Acc Naskah Skripsi	

Pembimbing Skripsi I

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



Malang, 1 November 2022

Kartu Program Studi

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

Lampiran 12. Kartu Konsultasi Pembimbing II



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi
 NIM : 18620007
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA 2022/2023
 Pembimbing : Dr. M. Immamuddin, M.A.
 Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Blondo *Virgin Coconut Oil* dan Uji Antimikroba terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	28/03/2022	Konsultasi Proposal BAB 1 dan 2	
2.	31/03/2022	ACC Proposal Skripsi	
3.	26/09/2022	Konsul Integrasi BAB 1, 2 dan 4	
4.	28/10/2022	Konsul Integrasi BAB 4 dan Abstrak Bahasa Arab	
5.	02/11/2022	Revisi Abstrak	
6.	03/11/2022	Acc Naskah Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			

Malang, 1 November 2022

Pembimbing Skripsi II



Dr. M. Immamuddin, M.A.
 NIP. 19740602 200901 1 010

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 00

Lampiran 13. Bukti Checklist Plagiasi



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 : Pramesty Wahyuning Dwi Pertiwi
NIM : 18620007
Judul : *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil serta Uji Antimikroba terhadap Bakteri Salmonella typhi*

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	22%	

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi



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