

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT
YOGURT YUMOO TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus
aureus***

SKRIPSI

Oleh :

AZIZAH NURUL RAHMADHANY

NIM. 18930091



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT
YOGURT YUMOO TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus
aureus***

SKRIPSI

Oleh:

AZIZAH NURUL RAHMADHANY

NIM. 18930091

**Diajukan Kepada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk
Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT
YOGURT YUMOO TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh :
AZIZAH NURUL RAHMADHANY
NIM. 18930091

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal: 21 Juni 2022

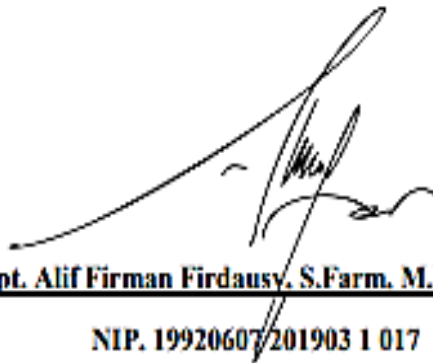
Pembimbing I



Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.E., M.Kes

NIP. 19800203 200912 2 003

Pembimbing II



apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed

NIP. 19920607 201903 1 017

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



Apt. Abdul Halim, M.PL, M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT
YOGURT YUMOO TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh :

AZIZAH NURUL RAHMADHANY

NIM. 18930091

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

Tanggal: 21 Juni 2022

Ketua Penguj I : Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin (.....) (Signature)
NIP. 19930130 20180201 2 203

Anggota Penguji: 1. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes (.....) (Signature)
NIP. 19800203 200912 2 003

2. apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed (.....) (Signature)
NIP. 19920607201903 1 017

3. Muhammad Amiruddin, Lc., M. Pd (.....) (Signature)
NIP. 19780317 20180201 1 218

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Farmasi


Apt. Abdul Hakim, M.PL. M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Azizah Nurul rahmadhany

NIM : 18930091

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Yogurt
Yumoo Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

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

Malang, 09 Juni 2022

Yang membuat pernyataan,



Azizah Nurul Rahmadhany

NIM. 18930091

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Puji syukur kehadiran Allah SWT dan tak lupa shalawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Disertai rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan karya tulis sederhana ini kepada pihak-pihak yang telah membantu dan mendukung penulis hingga saat ini.

Kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Siswanto dan Umi Hasanah: Allah hadirkan penulis bersama kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan yang tak terbandung, memberikan pertanyaan yang tak tamat, dan tentunya selalu mengarahkan dengan tidak sedikit paksaan. Tidak lupa adik-adikku yang akan selamanya menggemaskan, yang telah ikhlas dalam memberikan pipinya sebagai penghibur lara di kala susah dan buntu mengerjakan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa memberikan rahmat, keberkahan, dan ketinggian derajat dunia akhirat.

Kepada keluarga Riset BAL. Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed yang telah memberikan banyak dukungan serta arahan dalam segala aspek, juga tak lupa menanamkan pelajaran kehidupan yang semoga tak luntur disapu waktu. Semoga Allah membalas beliau dengan keberkahan hidup dan sebagik-baiknya balasan. Tidak lupa anggota team, Nofita, Kurnia dan Afnan yang telah membantu dengan sukarela dalam menjaga dan merawat anakan-anakan bakteri dari sampel kita.

Kepada sahabat saya, Destiya yang selalu membuat saya menumpuk utang budi kepada dirinya, teman-teman kontrakan yang sangat berjasa menemani masa-masa bangku perkuliahan. Tidak lupa Mala dan Nadil yang senantiasa memberikan dukungan sarkastik tapi tulus sejak awal masuk perkuliahan. Masing-masing memiliki cerita yang berkesan dalam 4 tahun ini. Untuk nama-nama yang tak bisa saya sebutkan satu persatu semoga Allah memberikan keberkahan di setiap langkah kalian.

Kepada diri sendiri, semoga Allah SWT, senantiasa menemani dan memberikan kemudahan dalam setiap proses menuju kesuksesan dunia dan akhirat. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan perjuangan yang telah dilalui, kecuali rasa syukur yang penulis panjatkan kepada Allah SWT. Semoga Allah senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan keberkahan hidup.

-Penulis-

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulisan proposal skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Yogurt Yumoo Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”** dapat terselesaikan. Sholawat serta salam semoga senantiasa terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, kepada para sahabat, keluarga serta seluruh umat yang mengikuti beliau hingga akhir zaman.

Penulis membuat proposal skripsi ini untuk memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Jurusan Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Selain itu, penulis berharap penelitian ini bermanfaat dalam menambah pengetahuan dan wawasan khususnya pada bidang Farmasi Sektor Biomedik.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal skripsi ini tidak akan berhasil dengan hasil baik tanpa adanya bimbingan dan dukungan lahir dan batin dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W., M. Kes, Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm selaku ketua program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed selaku dosen pembimbing utama proposal skripsi, yang senantiasa selalu memberikan arahan,

bimbingan, nasehat, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi ini dengan baik.

5. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes selaku dosen pembimbing proposal skripsi yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal skripsi ini.
6. apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin selaku penguji utama yang telah memberikan masukan dan wawasan baru mengenai penulisan proposal skripsi ini.
7. Segenap dosen dan civitas akademika program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Kedua orang tua saya, Bapak Siswanto dan Ibu Umi Hasanah yang telah memberikan ultimatum tidak akan membiayai kuliah penulis jika lebih dari 8 semester belum lulus.
9. Saudari-saudari saya, Nofita, Destiya, Kurnia, Afnan dan teman-teman kontrakan yang telah memberikan dukungan mental maupun Wi-fi dan kucing-kucing yang bebas elus.
10. Diri saya sendiri untuk tidak menyerah.

Penulis menyadari bahwa adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan proposal skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan proposal skripsi yang lebih baik. Semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	i
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Peneliiian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Batas Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Yogurt.....	7
2.1.1 Pengertian Yogurt	7
2.1.2 Pembuatan Yogurt.....	7
2.2 Isolat BAL	10
2.2.1 Pengertian Isolat BAL.....	10
2.3 Senyawa Antibakteri dalam BAL.....	14
2.3.1 Bakteriosin	14
2.3.2 Asam Laktat	15
2.3.3 Diasetil	15
2.3.4 Hidrogen Peroksida.....	16
2.4 Antibakteri.....	17
2.4.1 Definisi Antibakteri.....	17
2.4.2 Mekanisme Antibakteri.....	18

2.5	Resistensi Antibiotik	22
2.6	<i>Escherichia coli</i>	26
2.6.1	Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	26
2.6.2	Morfologi <i>Escherichia coli</i>	27
2.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	28
2.7.1	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	28
2.7.2	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	29
2.8	Uji Aktivitas Antibakteri	30
2.8.1	Metode difusi	30
2.8.2	Metode dilusi.....	31
2.9	Antibiotik Kloramfenikol	32
BAB III KERANGKA PENELITIAN		33
3.1	Kerangka Konseptual	34
3.2	Uraian Kerangka Konseptual	34
3.3	Hipotesis Penelitian	36
BAB IV METODE PENELITIAN		37
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	37
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian	37
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	37
4.3.1	Variabel Penelitian	37
4.3.2	Definisi Operasional.....	38
4.4	Alat dan Bahan	38
4.4.1	Alat.....	38
4.4.2	Bahan.....	39
4.5	Prosedur Penelitian.....	39
4.5.1	Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Yogurt	39
4.5.2	Pembuatan Stock Culture Isolat Bakteri	39
4.5.3	Identifikasi Bakteri Asam Laktat	40
4.5.4	Uji Aktivitas Antibakteri.....	42
4.5.5	Analisis Data	44
4.6	Kerangka Prosedur	45
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		46
5.1	Isolasi Bakteri Asam Laktat Yogurt	46
5.2	Identifikasi Bakteri Asam Laktat.....	47

5.2.1	Morfologi	47
5.2.2	Fisiologi	49
5.2.3	Biokimia.....	49
5.3	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	53
5.3.1	<i>Escherichia coli</i>	54
5.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	55
5.3.3	Pembahasan.....	57
BAB IV PENUTUP		64
6.1	Kesimpulan.....	64
6.2	Saran	64
DAFTAR PUSTAKA		65
LAMPIRAN.....		71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Spesies <i>Lactobacillus</i>	11
Gambar 2.2 Spesies <i>Bifidobacterium</i>	12
Gambar 2.3 Spesies <i>Streptococcus</i>	13
Gambar 2.4 Mekanisme Antibiotik.....	18
Gambar 2.5 Mekanisme senyawa antimikroba terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif.	19
Gambar 2.6 Gambar Mikroskopik <i>Escherichia coli</i>	27
Gambar 2.7 <i>E.coli</i> pada media NA.....	28
Gambar 2.8 Gambar Mikroskopik <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Gambar 2.9 <i>S.aureus</i> pada Media NA.....	30
Gambar 2.10 Senyawa Kloramfenikol.....	32
Gambar 5.1 Isolat BAL Yogurt Yumoo di Media MRSA	47
Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan Gram (perbesaran 100x)	48
Gambar 5.3 Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat.....	50
Gambar 5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap <i>S.aureus</i>	54
Gambar 5.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap <i>E.coli</i>	56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Syarat Mutu Yoghurt	9
Tabel 5.1 Ringkasan Hasil Identifikasi Isolat Yogurt.....	52
Tabel 5.2 Zona Hambat Isolat BAL Yogurt Yumoo Terhadap <i>E. coli</i>	54
Tabel 5.3 Ringkasan Analisis Data Post Hoc Tukey HSD pada <i>E.coli</i>	55
Tabel 5.4 Zona Hambat Isolat BAL Yogurt Yumoo Terhadap <i>S. aureus</i>	56
Tabel 5.5 Ringkasan Analisis Data Post Hoc Tukey HSD pada <i>S.aureus</i>	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	71
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	75
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistika	78

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

BAL	: Bakteri Asam Laktat
CFS	: <i>Cell Free Supernatan</i>
mg	: miligram
°C	: derajat Celcius
mm	: milimeter
BSC	: <i>Biological Safety Cabinet</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
MRS	: <i>de Mann Rogosa Sharpe</i>
TSIA	: <i>Triple Sugar Iron Agar</i>
mL	: mililiter
MYE	: <i>Milk Yeast Extract</i>
SIM	: <i>Sulfide Indole Motility</i>
MRSA	: <i>de Mann Rogosa Sharpe Agar</i>
rpm	: revolutions per minute

ABSTRAK

Rahmadhany, Azizah Nurul. 2022. **Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Yogurt Merek Yumoo Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing 1: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes.; Pembimbing 2: apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed. Penguji: apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

Latar Belakang: Yogurt merupakan produk susu hasil fermentasi sekelompok bakteri asam laktat (BAL). Beragam jenis BAL yang terkandung dalam yogurt diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Yogurt Yumoo merupakan produk yogurt yang berasal dari kabupaten Malang. Kabupaten Malang sebagai salah satu daerah penghasil susu sapi terbesar di Indonesia memiliki potensi keragaman BAL yang tinggi, sehingga perlu dilakukan penelitian dalam mempelajari aktivitas menghambat pada bakteri patogen.

Tujuan: Mengidentifikasi isolat BAL dalam produk yogurt Yumoo serta mengetahui aktivitas antibakteri yang dihasilkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Metode: Proses isolasi yang menghasilkan 6 isolat yogurt, salah satunya diidentifikasi secara fenotip terkait morfologi, fisiologi dan biokimianya. Kemudian *Cell Free Supernatant* (CFS) pada masing-masing isolat diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Hasil: Diperoleh isolat yogurt termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat secara fenotip. Isolat BAL memiliki aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter zona hambat terbaik yaitu $9,46 \pm 0,16$ mm terhadap *E.coli* yang termasuk dalam kategori sedang. Sedangkan pada *S.aureus* didapat hasil $7,30 \pm 0,05$ mm yang termasuk dalam kategori lemah.

Kesimpulan: Isolat BAL yogurt Yumoo mampu menghasilkan daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Kata kunci: Yogurt, bakteri asam laktat, aktivitas antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Rahmadhany, Azizah Nurul. 2022. **Antibacterial Activity Test of Lactic Acid Bacteria Isolate from Yumoo Yogurt Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor 1: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes.; Advisor 2: apt. Alif Firman Firdausy, S. Farm, M. Biomed. Tester: apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm. Klin.

Background: Yogurt is a dairy product that is fermented by a group of lactic acid bacteria (LAB). Various types of LAB contained in yogurt are known to have the ability to inhibit bacterial growth. Yumoo Yogurt is a yogurt product originating from Malang. Malang as one of the largest cow's milk producing areas in Indonesia has a high potential for diversity of LAB, so research is needed to study the activity of inhibiting pathogenic bacteria.

Objectives: To identify LAB isolates from Yumoo yogurt and determine the antibacterial activity produced to inhibiting bacterial growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

Methods: The isolation process produced 6 yogurt isolates, one of which was identified by phenotype related to its morphology, physiology and biochemistry. Then the *Cell Free Supernatant* (CFS) in each isolate was tested for antibacterial activity using the *disc diffusion* method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Results: Yogurt isolates were found to be included in the lactic acid group by phenotype. LAB isolates had antibacterial activity with an average diameter of the best inhibition zone of 9.46 ± 0.16 mm against *E.coli* which was included in the medium category. While in *S.aureus* the results obtained were 7.30 ± 0.05 mm which was included in the weak category.

Conclusion: LAB isolates from Yumoo yogurt was able to produce inhibition against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Keywords: Yogurt, lactic acid bacteria, antibakterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

مستخلص البحث

الرحمضاني ، عزيزة نور. 2022. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لحمض اللاكتيك الغنمول البكتيري من زبادي يومو ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة ، كلية الطب والعلوم الصحية ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الأستاذة الدكتورة رائحة المطيعة الماجستير ؛ المستشار 2: الصيدلي أليف فيرمان الفردوسي الماجستير. الممتحن: الصيدلي ين ين آري إندراويجايا الماجستير.

خلفية البحث: الزبادي هو إنتاج الألبان المخمر بواسطة مجموعة من بكتيريا حمض اللاكتيك. من المعروف أن الأنواع المختلفة من حمض اللاكتيك الموجودة في الزبادي لديها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا المسببة للأمراض. زبادي يومو هو إنتاج الزبادي من ريجنسي مالانج. يعتبر ريجنسي مالانج كواحد من أكبر المناطق الإنتاجية لحليب البقر في إندونيسيا لديها إمكانات عالية لتنوع بكتيريا حمض اللاكتيك ، لذلك يحتاج إلى البحث لدراسة النشاط المثبط للبكتيريا المسببة للأمراض.

الهدف: تحديد حمض اللاكتيك الغنمول البكتيري من زبادي يومو ووصف النشاط المضاد للبكتيريا الناتج في تثبيط نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*).

الطريقة: أنتجت عملية العزل 6 عزلات الزبادي ، تتعرف إحداها ظاهرياً مرتبطاً بالمورفولوجيا والمورفولوجيا والكيمياء الحيوية. ثم استخلص المادة الطافية الخالية من الخلايا في كل عزلة من حيث اختبار النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار القرص ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*).

النتائج: تم الحصول على عزلات الزبادي تنتمي إلى مجموعة بكتيريا حمض اللاكتيك ظاهرياً. كان حمض اللاكتيك الغنمول البكتيري له النشاط المضاد للبكتيريا بمتوسط القطر لأفضل منطقة التثبيط تبلغ 9.46 ± 0.16 ملمتر ضد الإشريكية القولونية التي تتضمن في الفئة المتوسطة. وأما النتيجة 7.30 ± 0.05 ملمتر على المكورات العنقودية الذهبية تتضمن في الفئة الضعيفة.

الخلاصة: إن حمض اللاكتيك الغنمول البكتيري من زبادي يومو قادر على إنتاج التثبيط ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*).

الكلمات الرئيسية: الزبادي ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، النشاط المضاد للبكتيريا ، المكورات العنقودية الذهبية ، الإشريكية القولونية.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan keadaan udara yang berdebu, temperatur hangat dan lembab sehingga mikroba dapat berkembang dengan baik. Keadaan tersebut ditunjang dengan keadaan sanitasi yang buruk yang menjadikan penyakit infeksi semakin mudah untuk berkembang. Penyakit infeksi merupakan suatu permasalahan pada bidang kesehatan dimana penyakit ini dapat ditularkan melalui berbagai perantara (vektor) seperti melalui hewan, udara, benda-benda maupun manusia. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, riketsia, dan protozoa. (Aminingsi et al., 2012).

Bakteri patogen yang sering menjadi penyebab penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) dan *Escherichia coli* (*E.coli*). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram-positif yang bertanggung jawab atas munculnya infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang diperoleh pasien setelah masuk rumah sakit. Prevalensi infeksi nosokomial rumah sakit di dunia lebih dari 1,4 juta atau sedikitnya 9% pasien rawat inap di seluruh dunia mendapat infeksi nosokomial (Wikananda et al., 2019). Sementara itu, *Escherichia coli* merupakan basil gram-negatif yang juga dikenal sebagai bakteri indikator sanitasi dan higiene karena keberadaannya di usus manusia. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E.coli* adalah diare. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, prevalensi diare di Indonesia mengalami peningkatan pada tahun 2019 mencapai

kurang lebih 1 juta jiwa dan memiliki prevalensi angka kematian di Indonesia sebesar 3,04% (Fitri & Rahayu, 2018).

Penanganan yang dilakukan dalam mengatasi penyakit infeksi secara cepat yaitu dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai aturan menyebabkan bakteri menjadi resisten. Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan ketidak mampuan suatu antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Resistensi antibiotik mempunyai pengaruh cukup besar terhadap kesehatan manusia, setidaknya 2 juta orang mengalami infeksi oleh bakteri resisten terhadap antibiotik dan 23.000 orang meninggal setiap tahunnya akibat dari infeksi tersebut. Sebuah penelitian oleh Mardiasuti dkk (2007), menunjukkan adanya peningkatan resistensi beberapa bakteri patogen terhadap antibiotik di beberapa negara di dunia. Permasalahan tersebut disebabkan dari pemakaian antibiotik dengan dosis yang kurang tepat, jenis, serta lama waktu pemberian sehingga menimbulkan bakteri menjadi resisten. Bakteri *E.coli* dan *S.aureus* diketahui resisten terhadap beberapa antibiotik terutama pada jenis antibiotik β -laktam (Brooks *et al*, 2001)

Semakin luasnya kasus resistensi antibiotik menjadi tantangan besar bagi berbagai kalangan. Sebagai hamba Allah SWT harus mampu untuk terus mengembangkan ide-ide, penalaran, dan pengamatan islam terhadap segala sesuatu yang ada di bumi demi kesejahteraan umat bersaudara, salah satunya dalam kasus resistensi antibiotik yang akan bermanfaat untuk banyak umat manusia. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Ali Imran ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ . الَّذِينَ يَذْكُرُونَ
 اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا
 بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kamu dari siksa neraka”* (Qs. Ali Imran: 190-191)

Berdasarkan ayat tersebut sebagai ciptaan Allah SWT perlu memiliki kemauan dan kemampuan dalam menganalisis solusi dari permasalahan. Permasalahan yang dimaksud dalam proosal ini ialah kasus resistensi antibiotik sehingga analisis solusinya adalah dengan menemukan alternatif senyawa yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap mikroorganisme lain. Menurut penelitian Detha et al (2020) bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam produk susu diketahui memiliki kemampuan antimikroba di dalamnya.

Efek antimikrobial BAL disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam asetat serta penurunan pH yang dihasilkan. Selain itu BAL juga menghasilkan senyawa-senyawa penghambat lain seperti hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, reuterin dan bakteriosin. Bakteri asam laktat umumnya ditemukan dalam proses fermentasi produk pangan, seperti Yoghurt (Riadi et al., 2017).

Bakteri asam laktat yang biasa digunakan dalam fermentasi Yoghurt adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus bulgaricus* berperan dalam pembentukan aroma yoghurt, sedangkan

Streptococcus thermophilus berperan pada pembentukan cita rasa yoghurt (Arini, 2017). Dua mikroorganisme *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* tumbuh bersama-sama secara simbiosis dan bertanggung jawab selama fermentasi asam laktat dalam pembuatan yoghurt. Dalam hal simbiosis *Lactobacillus bulgaricus* dapat menghasilkan glisin dan histidin sebagai hasil dari pemecahan protein yang dapat menstimulasi pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* (Horackova & Plockova, 2015).

Diketahui Yoghurt merupakan produk hasil fermentasi susu baik hewani maupun nabati. Produksi susu di Indonesia didominasi oleh Jawa, dengan pemasok terbesarnya adalah Jawa Timur dengan 250,38 ribu ton. Di Jawa Timur sendiri, pemasok susu terbesar yaitu Kabupaten Malang dengan jumlah produksi mencapai 141,9 ribu ton (Kementerian Pertanian, 2019). Belakangan telah banyak beredar di pasaran produk minuman susu fermentasi dengan berbagai merek dan jenis baik yang diproduksi oleh industri-industri besar maupun industri-industri rumahan. Salah satu produk Yoghurt yang ada di Kabupaten Malang adalah Yoghurt Yumoo. Yoghurt Yumoo merupakan Yoghurt yang diproduksi oleh salah satu industri rumahan di Kecamatan Pujon.

Yoghurt termasuk salah satu bentuk pangan probiotik yang sejak lama telah dikenal sebagai bahan makanan pembawa organisme probiotik. Manfaat bakteri probiotik bagi kesehatan manusia diantaranya adalah meningkatkan sistem imunitas, membantu absorpsi nutrisi, memperpendek durasi sakit diare dan membantu pencernaan laktosa bagi penderita lactose intolerance (Widiyaningsih, 2011). Hasil penelitian Permana (2006) menunjukkan bahwa 3 dari 5 produk

Yoghurt di Malang memiliki kandungan asam laktat yang berbeda-beda dan memiliki nilai penghambatan pertumbuhan patogen yang cukup tinggi. Adanya antibakteri yang bersumber dari Yoghurt, diharapkan dapat menjadi alternatif dari kasus resistensi antibiotik yang terus meningkat di dunia. Maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi BAL yang terkandung dalam Yoghurt merek Yumoo yang berasal dari Kabupaten Malang dan menguji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah karakteristik dari isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo?
2. Bagaimanakah aktivitas antibakteri isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo terhadap *Escherichia coli*?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo terhadap *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik dari isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo.
2. Mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo terhadap *Escherichia coli*.
3. Mengetahui aktivitas antimikroba dari isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt Yumoo terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin diperoleh setelah melakukan penelitian ini yaitu mampu mengidentifikasi dan mengetahui aktivitas antimikroba dari cell free supernatant isolat Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt di Kabupaten Malang terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.5 Batas Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah yoghurt dengan merek Yumoo yang berasal dari salah satu industri rumahan di Kecamatan Pujon, Kabupaten Malang.
2. Media yang digunakan untuk proses isolasi BAL adalah media MRS agar.
3. Media yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba adalah media MHA.
4. Identifikasi isolat BAL dilakukan secara fenotip.
5. Sampel yang digunakan untuk uji antimikroba adalah *cell free supernatan* dari yoghurt Yumoo.
6. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
7. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode cakram.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Yoghurt

2.1.1 Pengertian Yoghurt

Yoghurt adalah minuman probiotik yang dapat meningkatkan kesehatan dengan cara menekan bakteri patogen yang terdapat dalam usus sehingga dapat mengatasi gangguan pencernaan. Yoghurt dibuat dari bahan susu hewani yang difermentasi dengan menggunakan starter bakteri asam laktat dengan waktu inkubasi tertentu. Kultur probiotik yang umumnya digunakan ialah *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium sp*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus gasseri* dan *Lactobacillus johnsonii* (Chandan, 2007; Purnomo, Apridamayanti, 2019).

Yoghurt mengandung protein, beberapa vitamin B, mineral yang penting dan lemak dari susu yang digunakan. Karena pada Yoghurt struktur latosa dirusak, maka Yoghurt dapat dikonsumsi oleh orang yang alergi pada susu. Yoghurt tidak mengandung vitamin C dan zat besi dalam jumlah yang cukup untuk tubuh, namun Yoghurt merupakan sumber yang baik untuk mensuplai protein, fosfor, kalsium, magnesium dan kalori (Irianto, 2013).

2.1.2 Pembuatan Yoghurt

Yoghurt secara umum dibuat dengan menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dengan suhu optimum 38-42°C dan *Lactobacillus bulgaricus* dengan suhu optimum 42-45°C (Hidayat, 2006). Wahyudi (2006) menyatakan bahwa

Lactobacillus bulgaricus dan *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang membantu dalam fermentasi susu menjadi yoghurt, karena bakteri asam laktat merupakan bakteri yang menguntungkan. BAL memiliki sifat terpenting yaitu kemampuannya dalam merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dihasilkan asam laktat.

Pada dasar proses pembuatan yoghurt adalah memfermentasikan susu dengan menggunakan biakan (*Streptococcus thermophilus*) dan (*Lactobacillus bulgaricus*). Susu yang akan difermentasikan harus dipanaskan terlebih dahulu dengan tujuan untuk menurunkan populasi mikrobial dalam susu dan memberikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan biakan yoghurt serta mengurangi kandungan air dalam susu (Rukmana, 2001). Proses pembuatannya adalah, susu difermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan didalamnya terdapat kultur aktif bakteri tersebut (S. dan M. Widowati, 2003). Dasar fermentasi susu atau pembuatan yoghurt adalah proses fermentasi komponen gula-gula yang ada di dalam susu, terutama laktosa menjadi asam laktat dan asam-asam lainnya. Asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan citarasa dan meningkatkan keasaman atau menurunkan pH-nya. Semakin rendahnya pH atau derajat keasaman susu setelah fermentasi akan menyebabkan semakin sedikitnya mikroba yang mampu bertahan hidup dan menghambat proses pertumbuhan mikroba patogen dan mikroba pengrusak susu, sehingga umur simpan susu dapat menjadi lebih lama (Jannah et al., 2014).

Kualitas yoghurt dapat ditentukan melalui 2 cara yaitu secara subyektif dan pengamatan secara obyektif, pengukuran kimia, fisik, dan mikroba. Pengukuran kualitas yoghurt dapat berlangsung kapan saja, tetapi biasanya berlangsung sekitar 24 jam setelah produksi dan jika memungkinkan terdiri dari pemeriksaan sensoris (rasa, aroma, penampakan luar, tekstur), mikroskopis, titrasi keasaman, pH, komposisional, analisis (lemak, protein) dan ketahanan umur setelah 4 hari penyimpanan pada suhu 15°C (Aznury & Zikri, 2019).

Syarat mutu yoghurt berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981: 2009, adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Syarat Mutu Yoghurt (Badan Standarisasi Nasional, 2009)

Kriteria uji	Satuan	Spesifikasi
Keadaan		
- Penampakan	-	Cairan kental-semi padat
- Bau	-	Normal/khas
- Rasa	-	Asam/khas
- Konsentrasi	-	Homogen
Kadar lemak (b/b)	%	Min 3,0
Total padatan susu bukan lemak	%	Min 8,2
Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min 2,7
Kadar abu	%	Maks. 1.0
Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0
Cemaran logam		
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,3
- Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20,0
- Seng (Zn)	mg/kg	Maks. 40.,0
- Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0
- Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
- Arsen (As)	mg/kg	Maks. 0,1
Cemaran mikroba		
- Bakteri coliform	APM/g	Maks. 10
- Salmonella	APM/g	Negatif/25 g
Listeria monocytogenes	APM/g	Negatif/25 g
Jumlah bakteri starter	Koloni/g	Min. 10 ⁷

2.2 Isolat BAL

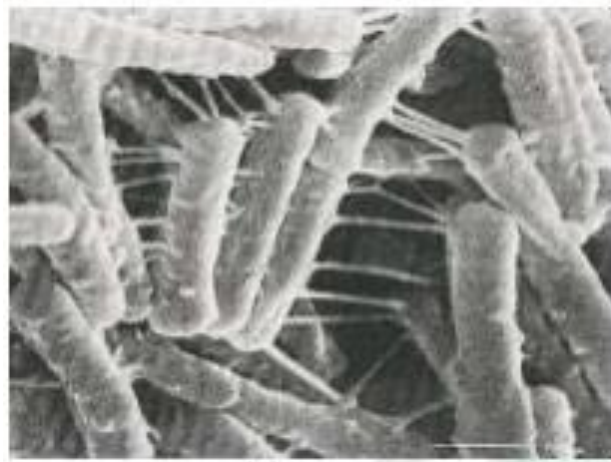
2.2.1 Pengertian Isolat BAL

Isolat adalah kultur murni hasil dari serangkaian proses pemisahan mikroorganisme. Teknik pemisahan tersebut disebut isolasi yang bertujuan untuk mengetahui jenis, mempelajari kultural, morfologi, fisiologi, karakteristik mikroorganisme tersebut (Irianto, 2013). Teknik isolasi bakteri yang digunakan yaitu dengan dilution method. Dilution method adalah pengenceran bertingkat yang terbagi menjadi 3 macam teknik isolasi yaitu *streak plate technique*, *spread plate technique* dan *pour plate technique* (Cappuccino, J.G. & Sherman, 1987).

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri gram positif yang disatukan berdasarkan karakteristik, morfologi dan fisiologis. Bakteri asam laktat termasuk dalam non spora, fermentasi karbohidrat, produksi asam laktat, tahan asam dalam keadaan non aerobik dan katalase negatif (Lee, K.Y., 2009). Kelompok bakteri ini merupakan bakteri yang dapat memproduksi asam laktat dalam jumlah besar dari karbohidrat. Spesies utama dari bakteri asam laktat terdapat pada genus *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* dan *Streptococcus thermophilus* (Sopandi, 2014).

Klasifikasi bakteri asam laktat ke dalam genus yang berbeda berdasarkan pada morfologi, cara fermentasi glukosa, pertumbuhan pada suhu yang berbeda, konfigurasi dari asam laktat yang diproduksi, kemampuan tumbuh pada konsentrasi garam tinggi dan toleransi pada asam atau basa (Lee, K.Y., 2009).

a. Spesies *Lactobacillus*

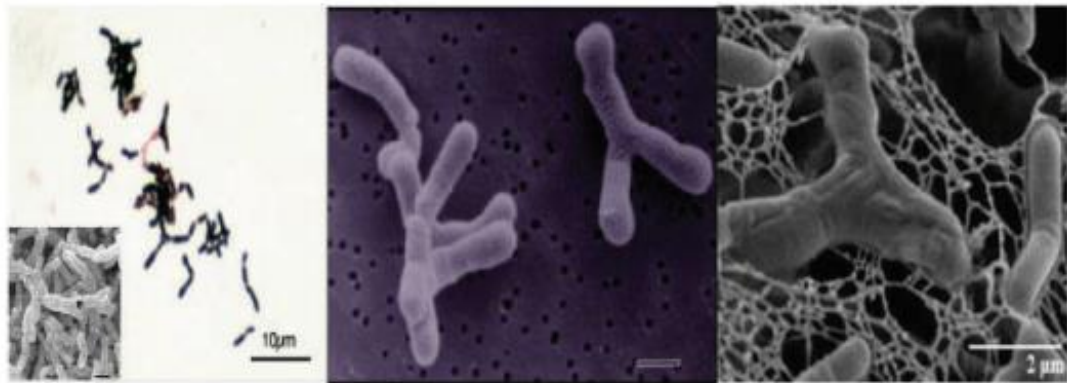


Gambar 2.1 Spesies *Lactobacillus*
Sumber: Malaka & Laga, 2005

Spesies *Lactobacillus* meliputi kelompok bakteri gram positif berbentuk batang, umumnya non motil, tidak berspora dan anaerob fakultatif. Produksi asam laktat atau campuran asam laktat, etanol, asam asetat dan CO₂ melalui fermentasi karbohidrat. *Lactobacillus* tumbuh pada temperatur sekitar 1-50°C, tetapi untuk biakan pemula dalam fermentasi pangan terkontrol akan tumbuh baik pada suhu 25-40°C. Sebagian spesies genus ini dimanfaatkan untuk fermentasi alami beberapa jenis pangan dan tumbuh baik pada suhu rendah yaitu 10-25°C. Pertumbuhan dalam media yang mengandung karbohidrat dapat menurunkan pH media hingga 3,5-5,0. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* digunakan untuk memproduksi produk susu fermentasi dan juga ditambahkan ke dalam susu pasteurisasi untuk dikonsumsi sebagai minuman probiotik. Bakteri ini dapat memetabolisme laktosa dan memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. *Lactobacillus acidophilus* tidak terdapat dalam mukosa saluran pencernaan namun ditemukan di dalam sel epitel usus halus. Bakteri ini ditemukan pada

tumbuhan dan berperan penting dalam memberikan kontribusi proses keasaman dan pengawetan makanan. *Lactobacillus* menghasilkan anti bakteri, filtrat *Lactobacillus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. (Wardah dan Tatang S, 2014)

b. Spesies *Bifidobacterium*



Gambar 2.2 Spesies *Bifidobacterium*
Sumber: Sukrama, 2019

Spesies *Bifidobacterium* memiliki morfologi yang mirip dengan beberapa bakteri *Lactobacillus* sp. dan pada awalnya termasuk dalam genus *Lactobacillus*. *Bifidobacterium* adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan ukuran yang bervariasi, sel tunggal atau rantai dengan ukuran yang bermacam-macam, tidak berspora, non motil dan anaerob. Namun beberapa jenis spesies dalam genus ini dapat toleran terhadap O_2 . Temperatur optimal untuk pertumbuhan adalah pada suhu $37-41^{\circ}C$, dengan kisaran pada suhu pertumbuhan $25-45^{\circ}C$ dan umumnya tidak dapat tumbuh pada pH diatas 8,0 atau dibawah 4,5. *Bifidobacterium* merupakan bakteri penghasil asam laktat dan asam asetat dengan rasio 2:3, bakteri-bakteri tersebut kurang sensitif terhadap asam lambung dan resisten terhadap garam empedu, lisozim dan enzim pankreatik yang terdapat dalam usus halus.

Bifidobacterium dapat memfermentasi laktosa, galaktosa dan beberapa pentosa. *Bifidobacterium* berada di bagian proksimal kolon dekat ilium. Spesies *Bifidobacterium thermophilum* biasa ditambahkan dalam produk susu dan dimanfaatkan untuk memelihara kesehatan usus halus manusia. (Wardah dan Tatang S, 2014)

c. Spesies *Streptococcus*



Gambar 2.3 Spesies *Streptococcus*
Sumber: Pribadi et al., 2020

Spesies ini mempunyai kurang dari 20 spesies dan kurang terkenal. Contoh yang termasuk dalam spesies ini adalah *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus agalactiae*. *Streptococcus* merupakan gram positif dalam bentuk cocci dengan diameter 0,5-2,0 μm , berbentuk tunggal, berpasangan atau berantai. Bakteri ini tidak berspora, non motil dan katalase negatif. Pertumbuhan optimum pada temperatur 37°C, biasanya bersifat anaerob fakultatif dan beberapa membutuhkan CO₂ untuk pertumbuhan (Whitman et al, 2009).

Bakteri Asam Laktat sering ditemui secara alamiah pada bahan makanan baik makanan mentah maupun bahan hasil olahan. Makanan fermentasi sebagai sumber BAL, keterlibatan BAL tidak hanya dalam masalah pengawetan bahan makanan, namun juga mampu menghasilkan senyawa tertentu yang memiliki kontribusi terhadap sifat sensoris suatu bahan makanan. Pengawetan bahan makanan dengan fermentasi asam laktat merupakan suatu proses yang mengubah bahan makanan menjadi produk lain yang lebih awet. Makanan fermentasi yang digunakan sebagai sumber BAL adalah susu, daging, buah-buahan dan sayuran. BAL juga mampu menghasilkan senyawa tertentu selain asam laktat dari asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Aktivitasnya dalam menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk ini berkaitan dengan adanya asam-asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang dihasilkan (Daeschel, 1989)

2.3 Senyawa Antibakteri dalam BAL

2.3.1 Bakteriosin

Bakteriosin adalah komponen ekstraseluler berupa polipeptida yang diproduksi oleh bakteri dan memiliki sifat bakteriostatik ataupun bakteriosidal terhadap mbakteri lain. Bakteriosin sering diidentifikasi sebagai protein dengan sifat antagonis intraspesifik atau emiliki aktivitas sebagai bakteriosidal dengan spektrum aktivitas yang sempit (hal ini merupakan perbedaan dari antibiotik), sintesis protein ini dikode dengan plasmid (Daeschel, 1989).

Salah satu ciri umum dari bakterisin adalah gen untuk memproduksi bakteriosin dan sifat kekebalannya yang terdapat dalam plasmid. Ada beberaoa

BAL yang memiliki peranann dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain. Hal ini dikarenakan BAL selama menghasilkan asam organik juga akan menghasilkan agen antimikroba demiikian pula bakteriosin.

Model aksi bakteriostatik dan bakterisidal terhadap sel yang retan yaitu Pediosin AcH menempel pada reseptor sel. Adanya penempelan Pediosin AcH pada reseptor membran sitoplasma ini menyebabkan fungsi membran sitoplasma rusak sehingga menyebabkan terjadinya pengeluaran material intraseluler, sel mengalami lisis dan bakteri mati, sedangkan mekanisme penghambatan bakteriosin pada mikroba lain cukup bervariasi, yaitu oembentukan pori dalam membran sitoplasma atau penghambatan melalui biosintesis dindidng sel dan aktivitas enzim (Rnase atau DNase) dalam sel target. Kebanyakan target dari aksi antibakteri bakteriosin adalah membran sel (Anita R, Sidabutar, Feliatra, 2014)

2.3.2 Asam Laktat

Asam Laktat ($C_2H_6O_3$) adalah hasil metabolisme karbohidrat dan menunjukkan efek antibakteri yang kurang efektif dalam menghambat mikroba pembusuk dan patogen.

Pengawetan pangan menggunakan fermentasi BAL akan mengubah wujud asli bahan mentah sehingga mempunyai atribut sensoris khas yang disukai dengan ketahanan simpan yang lebih lama. Fermentasi menggunakan BAL menghasilkan akumulasi asam laktat yang berefek pada penurunan pH sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Jumlah proporsi asam yang dihasilkan tergantung pada spesies mikroorganisme yang terlibat serta komposisi kimia substrat.

2.3.3 Diasetil

Beberapa spesies BAL seperti *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc* menghasilkan diasetil (2,3-butanedione) dalam jumlah banyak terutama melalui metabolisme asam sitrat. Diasetil menghasilkan rasa dan aroma butter, terdapat pada beberapa produk fermentasi susu (Langa et al., 2014).

Diasetil adalah produk metabolisme BAL yang disintesis intermediet piruvat dari metabolisme karbohidrat, konsentrasi diasetil 200 µg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan yeast, sedangkan pada konsentrasi 300 µg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Efektivitas antibakteri diasetil optimum pada pH asam (pH 5,0) serta efektif untuk bakteri gram negatif (Daeschel, 1989).

2.3.4 Hidrogen Peroksida

Hidrogen Peroksida (H_2O_2) diproduksi oleh BAL terutama dari bakteri *Lactobacillus* karena bakteri ini tidak memproduksi enzim katalase. Adanya komponen-komponen katalase, bahan organik, ion-ion logam berat, laktoperoksidase dan perlakuan panas dapat membuat H_2O_2 menjadi tidak stabil dan cepat terdekomposisi menjadi air dan O_2 . Pada konsentrasi 6 µg/ml H_2O_2 bersifat bakteriostatik terhadap *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 25-35 µg/ml bersifat bakterisidal. Mekanisme efek bakterisidal H_2O_2 terhadap sel bakteri yaitu senyawa ini akan mengoksidasi sel-sel dan mereduksi struktur molekul asam nukleat dan protein sel sehingga bakteri akan mati.

H_2O_2 memiliki spektrum penghambat yang cukup luas. Termasuk terhadap bakteri, yeast, virus dan mikroorganisme yang berbentuk spora. H_2O_2 lebih efektif

dalam kondisi anaerob . efek antibiotik ini berkurang dengan adanya enzim katalase yang mampu merusak peroksida.

2.4 Antibakteri

2.4.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penyebab infeksi dengan cara mengganggu metabolisme mikroorganisme yang bersifat patogen. Mikroorganisme dapat menimbulkan penyakit pada makhluk hidup lain karena mempunyai kemampuan menginfeksi, mulai dari infeksi ringan sampai infeksi berat bahkan kematian. Oleh karena itu, pengendalian yang cepat dan tepat perlu terus ditingkatkan agar mikroorganisme tidak menimbulkan kerugian yang besar (Dwidjoseputro, 1980; Radji, 2011)

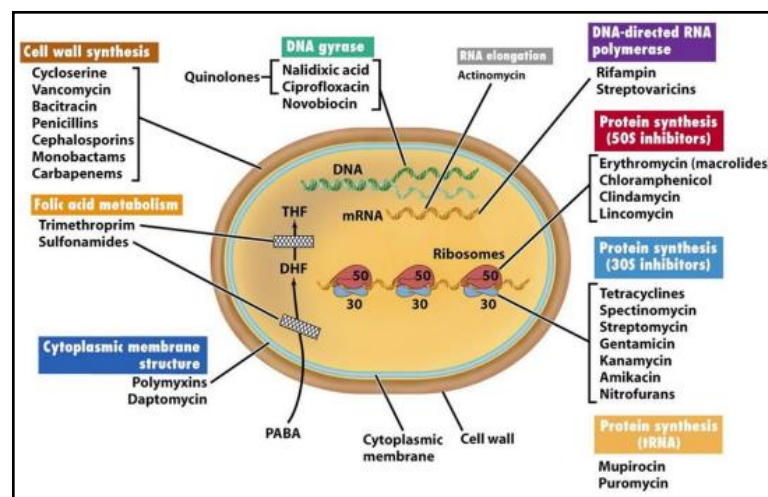
Beberapa agen antimikroba merupakan antibiotik. Walaupun semua antibiotik termasuk antimikroba, namun tidak semua agen antimikroba termasuk antibiotik. Antibiotik merupakan suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Berikut merupakan kualitas dari antibakteri yang ideal (Burton and Engelkirk, 2004):

- a. Membunuh atau menghambat pertumbuhan patogen
- b. Tidak menyebabkan kerusakan pada inang
- c. Tidak mengakibatkan reaksi alergi pada inang
- d. Tetap stabil saat disimpan dalam bentuk padat maupun cair
- e. Bertahan pada jaringan khusus pada tubuh dalam waktu yang cukup lama sehingga menjadi efektif

- f. Membunuh patogen sebelum mengalami mutasi dan menjadi resisten

2.4.2 Mekanisme Antibakteri

Antibakteri harus dapat menghambat atau membunuh patogen tanpa merugikan inang sehingga antibakteri harus ditargetkan pada proses metabolisme atau struktur yang dimiliki patogen, namun tidak dimiliki oleh inang. Berikut macam dari mekanisme antibiotik:



Gambar 2.4 Mekanisme Antibiotik

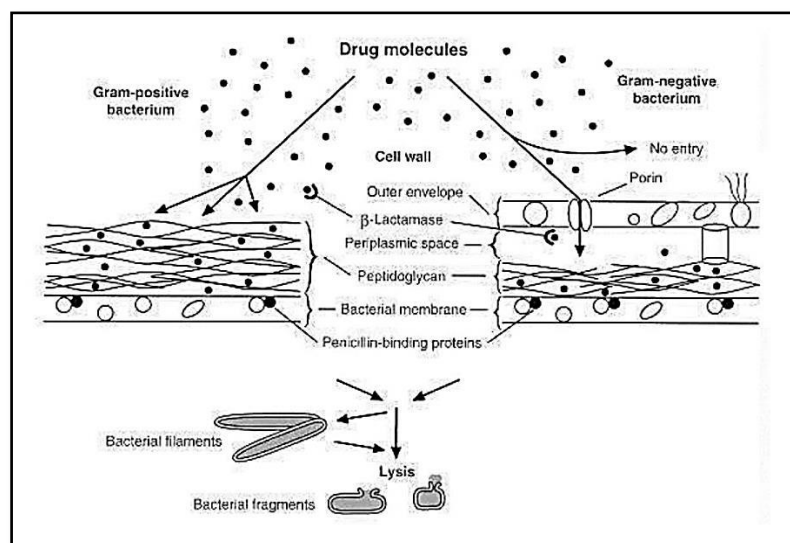
Sumber: Etebu & Ariekpar, 2016

- a. Gangguan pembentukan dinding sel

Dinding sel bakteri terdapat peptidoglikan yang terdiri dari turunan gula yaitu asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat serta asam amino 1, alanin, D-alanin, D-glutamat dan lisin (Boleng, 2015). Bakteri gram-positif mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan asam teikoat dan asam teikuronat yang bermuatan negatif. Pada bakteri gram negatif terdapat lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5-20% peptidoglikan. Lapisan ini merupakan lipid kedua yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). Lapisan ini tersusun oleh fofolipid, polisakarida dan protein (Madigan, 2000)

Perbedaan struktur dinding sel berpengaruh pada ketahanannya terhadap perlakuan bahan antimikroba dan bagian penting dari dinding adalah lapisan peptidoglikan karena lapisan ini berfungsi untuk melindungi sel bakteri dari perubahan kondisi lingkungan dan faktor-faktor luar yang menyebabkan kerusakan membran sel yang berakibat kematian sel bakteri tersebut. Bakteri gram positif lebih sensitif terhadap perlakuan biosida dari pada bakteri gram negatif (Madigan, 2000)

Mekanisme masuknya bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan gram negatif berbeda seperti pada gambar 2.3. Pada gambar 2.3 terlihat bahwa bakteri gram positif, bahan antimikroba dapat langsung masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein. Sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis. Sedangkan pada bakteri gram negatif bahan tersebut masuk melalui pori yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein (Nychas, 2000).



Gambar 2.5 Mekanisme senyawa antimikroba terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif.

Sumber: Neu, H.C, dan Gootz, 2001

Penghambatan senyawa antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa antimikroba untuk mempengaruhi dinding sel mikroba. Penghambatan senyawa antimikroba melibatkan produksi energi dan pembentukan komponen struktural yang mengakibatkan dinding sel bakteri terganggu. Mekanisme kerusakan dinding sel juga dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel. Sebagian besar antibiotik yang termasuk dalam kelas glikopeptida antibiotik (seperti vankomisin) mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat peptidoglikan. Mereka menghambat sintesis peptidoglikan dengan mengikat diri ke peptidoglikan dan memblokir transglikosilase dan aktivitas transpeptidase. (Etebu & Ariekpar, 2016)

b. Bereaksi dengan membran sel

Membran sitoplasma yang berperan pada keutuhan sel dapat terganggu permeabilitasnya oleh beberapa senyawa antimikroba yang dapat menyebabkan kebocoran sel sehingga transfer isi sel tidak terkontrol. Bocornya membran sitoplasma dapat pulih kembali dan dideteksi dengan adanya perubahan jumlah asam nukleat dan protein dalam medium. Senyawa antimikroba dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya, kerusakan pada membran ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel, yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler (Nychas, 2000).

c. Gangguan fungsi material genetik

Apabila senyawa antimikroba menghambat salah satu proses dari sintesis protein (transkripsi atau translasi) maka sintesis protein akan terhambat. Senyawa

antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA dan RNA), akibatnya transfer informasi genetik akan terganggu karena komponen menghambat aktivasi enzim RNA polymerase dan DNA polimerase yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga proses pembelahan sel menjadi terganggu (Campbell, 2002)

Kuinolon merupakan kelompok antibiotik dengan mekanisme mengganggu fungsi enzim helikase sehingga mengganggu enzim dari fungsinya melepas DNA. Antibiotik kuinolon pada akhirnya memotong proses replikasi dan perbaikan DNA di antara bakteri yang rentan. Kuinolon yang menghambat sintesis asam nukleat bakteri tidak berinteraksi dengan RNA polimerase, membuat mereka secara khusus antagonis terhadap Bakteri Gram-positif dan beberapa bakteri Gram-negatif (Etebu & Ariekpar, 2016).

d. Penghambatan sintesis protein

Sintesis protein adalah suatu rangkaian proses yang terdiri dari proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein). Antibakteri dapat menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein. Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis protein bakteri, yaitu dengan bereaksi terhadap komponen sel ribosom 50S yang membentuk kompleks pada tahap inisiasi, sehingga menimbulkan kesalahan pada translasi. Selanjutnya terjadi penyimpangan dalam ribosom yang menyebabkan sintesis protein dilanjutkan dengan pasangan yang tidak tepat dan akhirnya mengganggu pembentukan protein (Nychas, 2000; Radji, 2011).

Antibiotik seperti eritromisin, klindamisin, linkomisin, kloramfenikol, linezolid, dll terbukti menjadi salah satu penghambat ribosom 50S. Secara umum istilah, antibiotik yang menghambat 50S ribosom melakukannya dengan secara fisik memblokir baik fase inisiasi protein translasi atau fase elongasi sintesis protein dimana asam amino yang masuk dihubungkan dengan rantai peptida yang baru tumbuh. Contoh antibiotik yang menghalangi inisiasi translasi protein adalah anggota Oxazolidinones sementara makrolida seperti lincosamide dan streptogramin memblokir sintesis protein dengan menghambat fase elongasi translasi mRNA (Etebu & Ariekpar, 2016).

e. Menghambat jalur metabolisme utama

Beberapa antibiotik seperti sulfonamid dan trimetoprim telah terbukti meniru substrat yang dibutuhkan untuk metabolisme sel bakteri. Penipuan ini menyebabkan enzim bakteri untuk menempel pada antibiotik daripada substrat biasa. Khususnya sulphonamides bertindak seperti tetrahydrofolate yang diperlukan untuk sintesis asam folat dalam sel bakteri. Asam folat sangat penting dalam metabolisme asam nukleat dan asam amino; untuk alasan ini, sulfonamid pada akhirnya mengganggu produksi asam nukleat (DNA dan RNA) dan asam amino, karena meniru substrat yang dibutuhkan untuk metabolisme asam folat (Etebu & Ariekpar, 2016).

2.5 Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik dapat didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Sedangkan *multiple*

drugs resistance adalah resistensi terhadap dua atau lebih obat maupun klasifikasi obat. Sedangkan *cross resistance* adalah resistensi suatu obat yang diikuti dengan obat lain yang belum pernah dipaparkan (Tripathi, 2003).

Beberapa mikroorganisme patogen menjadi resisten terhadap antibiotik β -laktam dengan memodifikasi antibiotik atau melepaskan beberapa enzim seperti transferase yang menghambat atau memecah struktur kimia antibiotik. Pada kelompok antibiotik β -laktam akan terjadi hidrolisis ikatan amida menjadi tidak efektif oleh produksi enzim β -laktamase. Dalam kasus bakteri Gram Negatif kelompok antibiotik aminoglikosida menjadi tidak efektif karena modifikasi molekul antibiotik melalui fosforilasi, adenilasi dan asetilasi. Selanjutnya memodifikasi target dengan cara mengubah sistem kerja antibiotik yang sebelumnya telah dipelajari oleh bakteri. Cara kerja bakteri untuk membuat menjadi resistensi dengan mekanisme efflux (pompa) yang dikodekan oleh gen untuk mengidentifikasi dan mengeluarkan bahan kimia agen antibakteri dan senyawa struktural yang tidak terkait menghasilkan konsentrasi antibiotik yang rendah menjadi tidak memiliki atau sedikit efek pada pertumbuhan bakteri (Svetlana *et al*, 2018)

Resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Bakteri yang mampu bertahan hidup dan berkembang biak, menimbulkan lebih banyak bahaya. Kepekaan bakteri terhadap kuman ditentukan oleh kadar hambat minimal yang dapat menghentikan perkembangan bakteri (Abdul, 2008). Timbulnya resistensi

terhadap suatu antibiotika terjadi berdasarkan salah satu atau lebih mekanisme berikut (Jawetz, 2008):

- a. Bakteri mensintesis suatu enzim inaktivator atau penghancur antibiotika. Misalnya *Staphylococcus* sp, resisten terhadap penisilin G menghasilkan beta-laktamase, yang merusak obat tersebut. Betalaktamase lain dihasilkan oleh bakteri batang Gram-negatif.
- b. Bakteri mengubah permeabilitasnya terhadap obat. Misalnya tetrasiklin, tertimbun dalam bakteri yang rentan tetapi tidak pada bakteri yang resisten.
- c. Bakteri mengembangkan suatu perubahan struktur sasaran bagi obat. Misalnya resistensi kromosom terhadap aminoglikosida berhubungan dengan hilangnya (atau perubahan) protein spesifik pada subunit 30s ribosom bakteri yang bertindak sebagai reseptor pada organisme yang rentan.
- d. Bakteri mengembangkan perubahan jalur metabolik yang langsung dihambat oleh obat. Misalnya beberapa bakteri yang resisten terhadap sulfonamid tidak membutuhkan PABA (P-aminobenzoic acid) ekstraseluler, tetapi seperti sel mamalia dapat menggunakan asam folat yang telah dibentuk. Bakteri mengembangkan perubahan enzim yang tetap dapat melakukan fungsi metabolismenya tetapi lebih sedikit dipengaruhi oleh obat dari pada enzim pada kuman yang rentan. Misalnya beberapa bakteri yang rentan terhadap sulfonamid, dihidropteroat sintetase, mempunyai afinitas yang jauh lebih tinggi terhadap sulfonamid dari pada PABA

Penyebab utama resistensi antibiotika adalah penggunaannya yang meluas dan irasional. Lebih dari separuh pasien dalam perawatan rumah sakit menerima antibiotik sebagai pengobatan ataupun profilaksis. Sekitar 80% konsumsi antibiotik dipakai untuk kepentingan manusia dan sedikitnya 40% berdasar indikasi yang kurang tepat, misalnya infeksi virus. Terdapat beberapa faktor yang mendukung terjadinya resistensi, antara lain (Depkes, 2011):

- a. Penggunaannya yang kurang tepat (irrasional) : terlalu singkat, dalam dosis yang terlalu rendah, diagnose awal yang salah, dalam potensi yang tidak adekuat.
- b. Faktor yang berhubungan dengan pasien . Pasien dengan pengetahuan yang salah akan cenderung menganggap wajib diberikan antibiotik dalam penanganan penyakit meskipun disebabkan oleh virus, misalnya flu, batuk-pilek, demam yang banyak dijumpai di masyarakat. Pasien dengan kemampuan financial yang baik akan meminta diberikan terapi antibiotik yang paling baru dan mahal meskipun tidak diperlukan. Bahkan pasien membeli antibiotika sendiri tanpa peresepan dari dokter (self medication). Sedangkan pasien dengan kemampuan financial yang rendah seringkali tidak mampu untuk menuntaskan regimen terapi.
- c. Peresepan : dalam jumlah besar, meningkatkan pengeluaran perawatan kesehatan yang tidak perlu dan seleksi resistensi terhadap obat-obatan baru. Peresepan meningkat ketika diagnose awal belum pasti. Klinisi sering kesulitan dalam menentukan antibiotik yang tepat karena kurangnya pelatihan dalam hal penyakit infeksi dan tatalaksana antibiotiknya.

- d. Penggunaan monoterapi: dibandingkan dengan penggunaan terapi kombinasi, penggunaan monoterapi lebih mudah menimbulkan resistensi.
- e. Penggunaan di rumah sakit: adanya infeksi endemik atau epidemik memicu penggunaan antibiotika yang lebih massif pada bangsalbangsal rawat inap terutama di ruang ICU (intensive care unit). Kombinasi antara pemakaian antibiotik yang lebih intensif dan lebih lama dengan adanya pasien yang sangat peka terhadap infeksi, memudahkan terjadinya infeksi nosokomial.
- f. Penelitian: kurangnya penelitian yang dilakukan para ahli untuk menemukan antibiotika baru.
- g. Pengawasan: lemahnya pengawasan yang dilakukan pemerintah dalam distribusi dan pemakaian antibiotika. Misalnya, pasien dapat dengan mudah mendapatkan antibiotika meskipun tanpa resep dari dokter. Selain itu juga kurangnya komitmen dari instansi terkait baik untuk meningkatkan mutu obat maupun mengendalikan penyebaran infeksi.

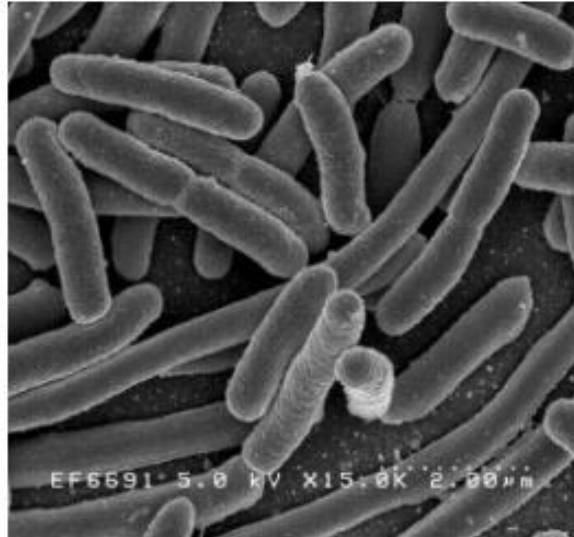
2.6 *Escherichia coli*

2.6.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Berikut merupakan klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli*:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Protobacteria
Classis	: Gamma Protobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Sutiknowati, 2016)

2.6.2 Morfologi *Escherichia coli*



Gambar 2.6 Gambar Mikroskopik *Escherichia coli*
Sumber: Sutiknowati, 2016

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek atau kokobasi dan merupakan flora alami pada usus mamalia. *E.coli* menghasilkan kolisin yang melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogenik. *E.coli* akan menjadu bakteri patogen bila berpindah dari habitatnya yang normal (Melliawati, 2009). Bakteri ini memiliki flagel dan sampai dengan panjang bakteri sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. Membentuk koloni bundar, cembung dan halus dengan tepi yang jelas (Hidayati, 2016).

E. coli memiliki 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K, 50 tipe antigen H. Antigen O dapat dibawa oleh mikroorganisme lain, sehingga sama dengan antigen yang dimiliki oleh Shigella. Penyakit infeksi saluran kemih dan diare terkadang berhubungan dengan antigen O (Karsinah, Lucky, H.M., Suharto, Mardiasuti, 2011).

E. coli bersifat anaerob fakultatif yang dapat hidup pada keadaan aerob maupun anaerob. Oksigen sebagai sumber karbon dari luar yang digunakan untuk tumbuh baik secara oksidatif. Hidup anaerob atau tanpa oksigen dengan menggunakan cara fermentasi yaitu menghasilkan energi untuk bertahan hidup (Manning, 2010).



Gambar 2.7 *E.coli* pada media NA
Sumber: Wachidah, 2016

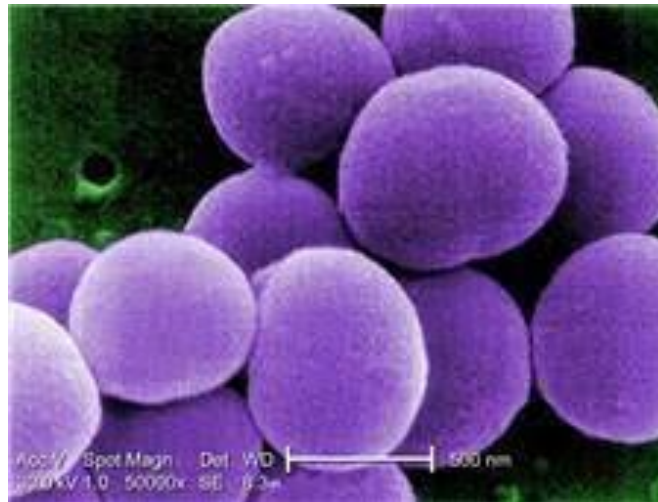
2.7 *Staphylococcus aureus*

2.7.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Berikut merupakan klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus*:

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Classis	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Vasanthakumari, 2007)

2.7.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

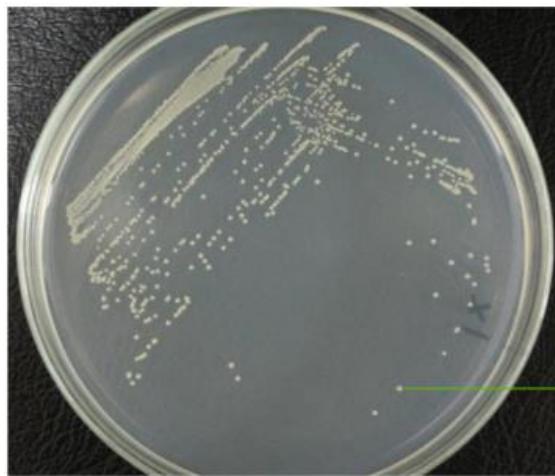


Gambar 2.8 Gambar Mikroskopik *Staphylococcus aureus*
Sumber: www.wikipedia.en.com

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,5-1,0 mm. berbentuk serangkaian seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C. Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S.aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Karimela et al., 2017).

Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit sehat dan dapat menjadi patogen atau infeksi serius ketika sistem imun melemah yang dikarenakan oleh [erubahan hormon, penyakit, jaringan kulit yang terbuka atau luka, penggunaan steroid atau obat yang mempengaruhi imunitas. Infeksi yang diakibatkan bakteri *S. aureus* dapat menyebar ke jaringan sekitarnya. Penyebaran tersebut dapat melalui darah dan limfa bersifat menahun serta dapat mencapai

daerah sumsum tulang belakang. Bakteri ini tersebar di udara sekitar pada lingkungan terbuka. Racun yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* sulit dihancurkan dengan panas, meski pemanasan dapat mematikan bakteri tetapi racun akan tetap bersifat membahayakan dan menyebabkan keracunan pada individu yang terkena. Racun dari *S. aureus* disebut dengan Enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan, mual, muntah dan diare merupakan gejala awal yang timbul secara mendadak. Kemampuan *S. aureus* dalam menghasilkan enzim koagulase yaitu enzim yang dapat mengumpulkan plasma, digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* jenis lain (Lusiana, 2020).



Gambar 2.9 *S.aureus* pada Media NA
Sumber: Djannatun, 2016

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tujuan diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Proses pengujiannya dilakukan dengan mengukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Adapun macam cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut:

2.8.1 Metode difusi

a. Cara Cakram (*disc*)

Metode ini dilakukan dengan meletakkan piringan yang berisi antibakteri agar berdifusi ke dalam media agar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Daerah bening di sekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Maradona, 2013)

b. Cara parit (*ditch*)

Metode ini dilakukan dengan meletakkan sampel uji berupa agen antibakteri ke dalam parit yang dibuat dengan memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur kemudian bakteri digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri. Langkah selanjutnya yaitu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya daerah bening di sekitar parit menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

c. Cara sumur (*cup*)

Cara sumur ini mirip dengan parit, yaitu dengan dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya daerah bening di sekitar parit menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

2.8.2 Metode dilusi

a. Metode dilusi (*broth dilution test*)

Metode ini bertujuan untuk mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Proses dilakukannya metode ini ialah

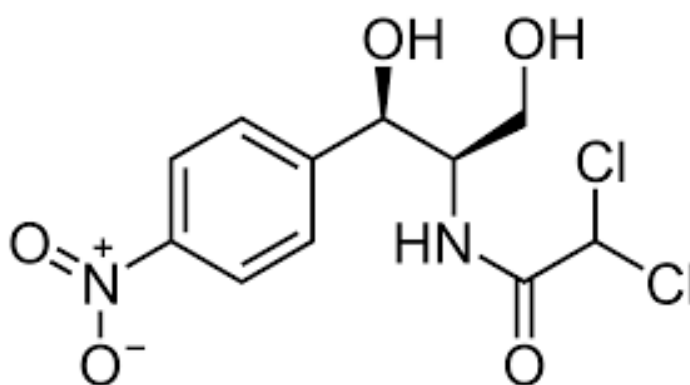
dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada media cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. KHM dapat ditentukan dari kadar terkecil agen antibakteri yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji. Selanjutnya di kultur ulang pada media cair tanpa penambahan media uji maupun agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Daerah bening pada media cair setelah diinkubasi menunjukkan KBM (Pratiwi, 2008).

b. Metode dlusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini mirip dengan metode dilusi cair, perbedaannya untuk metode ini menggunakan media padat. Keutungan dari metode ini adalah untuk menguji beberapa bakteri uji dapat hanya dengan menggunakan konsentrasi agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

2.9 Antibiotik Kloramfenikol

Antibiotik kloramfenikol dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Adapun struktur dari kloramfenikol sebagai berikut:



Gambar 2.10 Senyawa Kloramfenikol
Sumber: Depkes, 1995

Pemerian : Hablur halus bentuk jarum atau lempeng memanjang. Berwarna putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral atau larutan agak asam (Depkes, 1995).

Kelarutan : Sukar larut dalam air dan mudah larut dalam etanol, propilen glikol, aseton dan etil asetat (Depkes, 1995).

Mekanisme aksi : dihambatnya sintesis protein pada sel bakteri merupakan kerja dari kloramfenikol. Kloramfenikol berikatan secara reversible dengan unit ribosom 50S, sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom. Obat ini berikatan secara spesifik dengan akseptor yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida (Katzung, 2004)

Pandangan Al-Qur'an terkait pengembangan ilmu dan teknologi yang dimiliki dapat diketahui prinsip-prinsipnya melalui analisis wahyu pertama yang diterima oleh Rasulullah SAW sebagai berikut (Shihab, 1996):

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ (١) خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ (٢) اقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ (٣) الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ (٤) عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ (٥)

Artinya: “bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari ‘Alaq. Bacalah dan Tuhanmulah yang Maha Pemurah, yang mengejar manusia dengan pena, mengajar manusia apa yang tidak diketahuinya” (QS. Al-‘Alaq: 1-5).

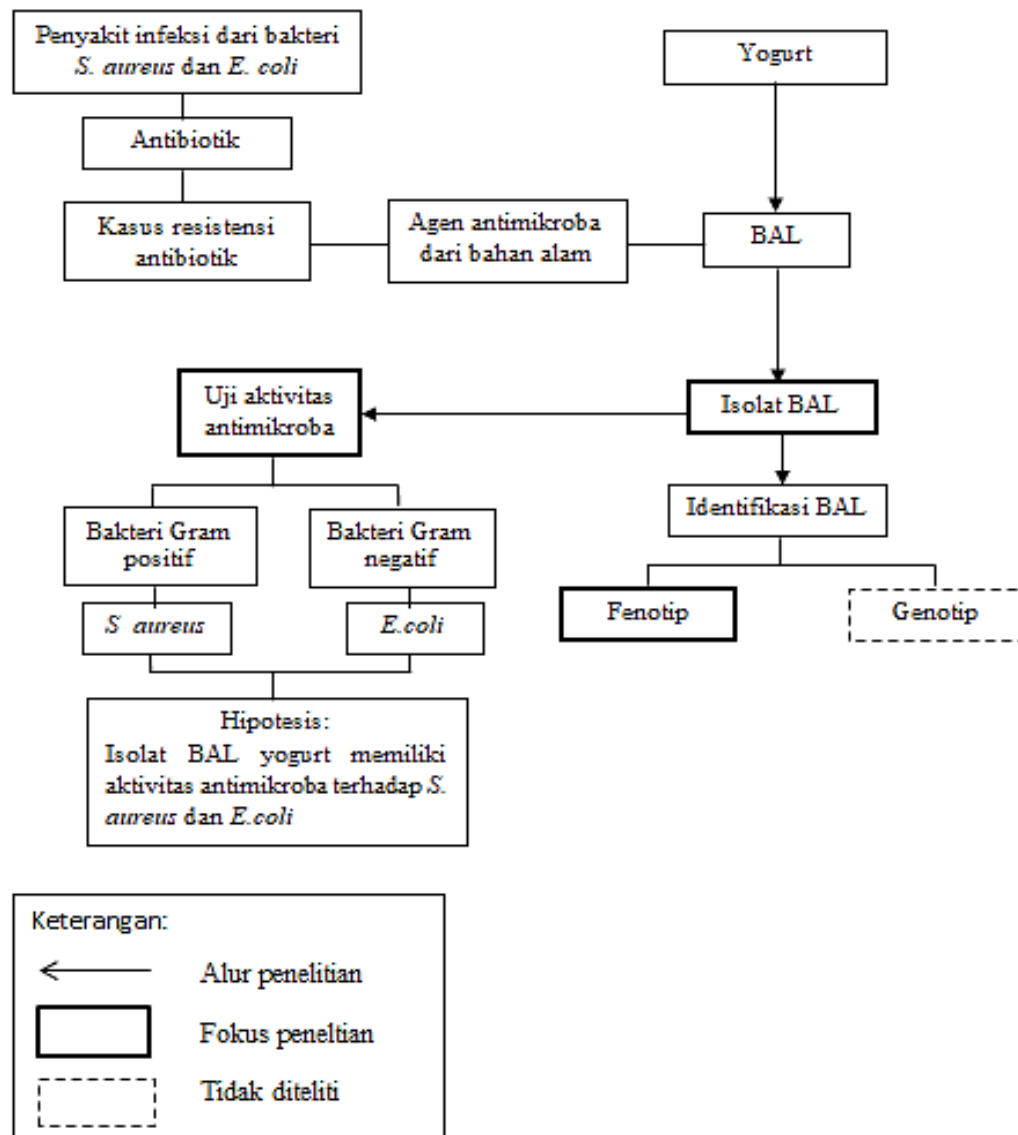
Kata Iqra’ memiliki makna menghimpun, dari kata “menghimpun” lahir aneka makna seperti menyampaikan, menelaah, mendalami, meneliti, mengetahui ciri suatu hal dan membaca baik teks tertulis maupun tidak. Wahyu, ilham, firasat dan intuisi yang diperoleh manusia, semuanya tidak lain adalah bentuk pengajaran Allah. Itulah pengajaran tanpa *qalam* yang ditegaskan oleh wahyu pertama

tersebut. Demikian ayat tersebut menyampaikan bahwasanya umat islam didukung penuh untuk terus mencari ilmu, menemukan sesuatu dan terus mengembangkannya, termasuk dalam dunia pengobatan.

BAB III

KERANGKA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kasus infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masih merupakan salah satu masalah yang sulit ditangani karena penyakit infeksi bakteri tersebut dapat menular kepada orang lain sehingga perlu untuk segera

ditangani. Infeksi bakteri umumnya dapat diobati dengan antibiotik namun penggunaan antibiotik di masyarakat pada beberapa tahun terakhir menjadi perhatian karena mulai munculnya kasus resistensi antibiotika. Angka kematian yang disebabkan oleh resistensi antibiotik terus mengalami peningkatan sehingga alternatif baru diperlukan untuk menanggulangi kasus resistensi tersebut. Alternatif yang sederhana namun cukup efektif adalah dengan menggunakan bahan yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme lain salah satunya adalah bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat sering ditemukan secara alamiah pada bahan makanan baik makanan mentah maupun bahan hasil olahan. Keterlibatan BAL dalam suatu bahan makanan tidak hanya dalam masalah pengawetan bahan makanan, namun juga berperan dalam pembentukan rasa dan tekstur pada makanan tersebut. BAL juga mampu menghasilkan senyawa tertentu selain asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Salah satu produk hasil BAL yang sering dijumpai di masyarakat umum adalah Yoghurt. Yoghurt merupakan produk hasil susu fermentasi yang memanfaatkan BAL sebagai pembentuk cita rasa dan tekstur yang khas pada Yoghurt. BAL yang digunakan dalam starter Yoghurt biasanya terdiri dari satu atau lebih jenis bakteri asam laktat yang memungkinkan adanya aktivitas antimikroba yang cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Beberapa tahapan perlu dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari produk Yoghurt di Kabupaten Malang terhadap patogen-patogen yang diujikan.

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah isolasi bakteri asam laktat untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat sampel Yoghurt. Selanjutnya isolat

bakteri asam laktat akan melalui identifikasi dan uji aktivitas antibakteri. Dimana pada uji identifikasi dilakukan secara fenotip untuk mengetahui morfologi, fisiologi dan biokimia dari isolat BAL Yumoo. Sedangkan pada uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri uji gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*) untuk mengetahui seberapa besar zona hambat yang dihasilkan dari isolat BAL. Setelah hasil dari aktivitas antibakteri isolat BAL telah didapat maka akan dianalisis data hasil menggunakan ANOVA untuk memisahkan variansi selain yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variansi oleh kesalahan random.

3.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini diduga isolat Bakteri Asam Laktat dalam Yoghurt Yumoo memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* dari isolat bakteri asam laktat pada yoghurt Yumoo terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cangkram pada uji aktivitas antibakteri *Cell Free Supernatan* (CFS). Uji aktivitas antibakteri pada isolat BAL Yoghurt Yumoo yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar area paper disk rendaman CFS isolat BAL.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung pada bulan Oktober 2021 sampai Januari 2022, bertempat di Laboratorium Parasitologi dan Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: isolat BAL Yoghurt Yumoo.
2. Variabel kontrol: media tanam bakteri uji, waktu inkubasi, suhu inkubasi.
3. Variabel terikat: luas daya penghambat antibakteri isolat Yoghurt.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Sampel yang digunakan adalah yoghurt yang merupakan minuman fermentasi bakteri asam laktat.
2. Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif non spora yang biasa digunakan dalam fermentasi bahan makanan dan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain.
3. Isolasi adalah proses mengambil bakteri dari medium atau lingkungan asalnya sehingga diperoleh biakan murni.
4. Identifikasi bakteri merupakan serangkaian prosedur yang bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat morfologi, biokimia dan molekuler dari bakteri.
5. Uji aktivitas antimikroba adalah serangkaian proses untuk menentukan potensi suatu zat yang diperkirakan memiliki kemampuan menghambat atau membunuh bakteri lain dengan ditandai adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain pipet tetes, cawan petri, jarum ose, spreader L, spatula, batang pengaduk, aluminium foil, object glass, mikrofilter, cottonbud steril, microtube, tabung reaksi, pinset, autoklaf, inkubator, tabung reaksi, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, mikroskop, erlenmeyer, bunsen, dan jangka sorong.

4.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut: yoghurt Yumoo yang berasal dari industri rumahan di Kecamatan Pujon, Kab. Malang,, aquades, media agar MRS (*de Mann Rogosa Sharpe*) (Himedia), MRS broth, media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) (Himedia), media SIM (Sulfide Indole Motility), H₂O₂ 3% (Hidrogen peroksida), Etanol 70%, *Milk Yeast Extract* (MYE), Yeast Extract Powder (Merck), susu skim, D-Glucose powder (Merck), Glukosa (Merck), media MHA (Himedia), gliserol 30% (teknik grade), green malachite, kristal violet, lugol, iodin, alkohol 96%, safranin, strip oksidase, blank disk (Oxoid), Kloramfenikol disk (Oxoid), bakteri biakan *Staphylococcus aureus* FNCC – 0047 dan bakteri biakan *Escherichia coli*.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Pengenceran Bertingkat Yogurt

Sampel yoghurt Yumoo diambil sebanyak 1 ml untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml H₂O. dihomogenkan lalu akan diperoleh pengenceran 10⁻¹. Kemudian diambil kembali 1 mL larutan sebelumnya lalu dilarutkan dengan 9 ml H₂O dan dilakukan seterusnya sampai diperoleh pengenceran 10⁻⁴ (Purnomo, Apridamayanti, 2019).

4.5.2 Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Yoghurt

Sampel ditanam di media agar MRS (*de Mann Rogosa Sharpe*) steril menggunakan metode cawan sebar secara aseptis. Cawan diinkubasi dalam kondisi mikroaerofilik (5% CO₂) dengan suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang berhasil tumbuh diinokulasi ke cawan petri berisi media agar MRS yang baru

dengan metode goresan. Cawan selanjutnya akan diinkubasi kembali dalam kondisi mikroaerofilik dengan suhu 37°C selama 48 jam (Deshmukh dan Thorat, 2013).

4.5.3 Pembuatan Stock Culture Isolat Bakteri

Media yang digunakan untuk pembuatan stock culture BAL adalah *Milk Yeast Extract* (MYE). MYE mengandung komposisi 10% susu skim, 15% glukosa, dan 0.5% yeast extract. Sejumlah 1 ml MYE dimasukkan ke dalam microtube steril dan diberi tanda. Isolat BAL dalam media agar MRS diinokulasi ke dalam microtube yang sebelumnya telah diisi dengan MYE menggunakan ose. Selanjutnya microtube diinkubasi dalam kondisi mikroaerofilik pada suhu 37°C selama satu malam. Sebanyak 1 ml culture BAL yang telah diinkubasi selama satu malam tersebut dipindahkan ke dalam cryotube volume 2 ml kemudian ditambahkan 1 ml gliserol 10%. Diperoleh konsentrasi akhir gliserol 5%. Stock culture BAL disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan untuk keperluan penelitian selanjutnya.

4.5.4 Identifikasi Bakteri Asam Laktat

1. Pewarnaan Gram

Isolat dari media MRS agar yang telah tumbuh diambil menggunakan ose. Dibuat preparat ulas diatas objek glass yang dilanjutkan dengan fiksasi di api bunsen. Preparat kemudian ditetesi dengan larutan kristal violet, didiamkan selama 60 detik. Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan iodine, didiamkan selama 2 menit. Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat kemudian ditetesi alkohol 96% sampai warna ungu

hilang. Preparat ditetesi safranin, didiamkan selama 30 detik. Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan minyak emersi. Bakteri asam laktat ditandai dengan sel berwarna ungu (Detha, 2019).

2. Uji Endospora

Sebelum digunakan dibersihkan gelas obyek dan gelas penutup menggunakan etanol 96% kemudian dikeringanginkan. Ditetaskan aquadest steril diatas gelas obyek kemudian ditambahkan 1 ose bakteri umur 72 jam. Diratakan pada permukaan atas gelas obyek dengan luas sekitar $1,5 \times 1,5 \text{ cm}^2$. Difiksasi preparat dengan melewatkannya diatas nyala api bunsen beberapa kali. Digenangi preparat yang sudah difiksasi dengan pewarnaan malachite hijau. Dipanaskan diatas penangas air (didas air mendidih) hingga timbul uap air (± 10 menit) (dijaga agar pewarna jangan sampai kering). Dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Diamati preparat menggunakan mikroskop (perbesaran 1000x) untuk mengetahui adanya spora dalam sel (endospora). Isolat BAL akan menunjukkan tidak ada spora dalam sel (Detha, 2019).

3. Uji Motilitas

Uji dilakukan menggunakan media SIM. Ditusukkan isolat dari media MRS agar pada agar tegak semi solid (medium SIM tegak). Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C . Hasil positif (motil) jika terdapat rambahan-rambahan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambahan-rambahan di sekitar bekas tusukan jarum ose pada

medium. Bakteri asam laktat merupakan bakteri non motil yang ditandai tidak terdapatnya rambahan di sekitar bekas tusukan (Detha, 2019).

4. Uji Katalase

Diambil satu ose isolat dari media pertumbuhan MRSA, kemudian diletakkan pada gelas objek yang telah disterilkan. Ditetaskan pereaksi H_2O_2 3% sebanyak 2 tetes pada isolat yang telah diletakkan di gelas objek. Dibiarkan beberapa saat, kemudian diamati. Hasil uji katalase bakteri asam laktat yang baik akan menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh menunjukkan reaksi negatif terhadap uji katalase, yaitu dengan tidak adanya gelembung udara. Perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) (Detha, 2019)

5. Uji Fermentasi Karbohidrat

Dibuat media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), dimasukkan ke dalam tabung Hach sebanyak 6 ml. Media disterilkan pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit - Didinginkan media pada posisi miring. Diinokulasikan isolat bakteri secara aseptik dengan jarum inokulasi lurus dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dari permukaan media, setelah itu digores pada bagian slant dari media. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$. Diamati hasilnya. Apabila bagian slant dan butt berubah warna kuning, maka menunjukkan bakteri dapat glukosa, laktosa, dan sukrosa (Pattuju et al., 2014).

6. Uji Oksidase

Dilarutkan terlebih dahulu isolat Yoghurt menggunakan aquades beberapa tetes. Direndam oksidase disk didalam genangan larutan isolat yang telah

disiapkan sebelumnya. Diamati perubahan warna yang terjadi pada disk selama 10-15 detik (Tjahjaningsih et al., 2016).

4.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Ekstraksi *Cell Free Supernatant* (CFS)

Isolat BAL ditumbuhkan pada medium MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah melalui masa inkubasi tersebut, kultur isolat dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5 untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Apabila kultur isolat telah memenuhi konsentrasi yang diharapkan, selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan dalam microtube. Kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan antara *cell free supernatant* dan filtrat. Kemudian *cell free supernatant* difilter menggunakan membran filter berukuran 0,45 mm milipore. Direndam blank disc pada *cell free supernatant* yang telah difilter. (Detha et al., 2020; John & Lennox, 2019)

Isolat BAL ditumbuhkan pada medium MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah melalui masa inkubasi tersebut, kultur isolat dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5 untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Apabila kultur isolat telah memenuhi konsentrasi yang diharapkan, selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan dalam microtube. Kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan antara *cell free supernatant* dan filtrat. Kemudian *cell free supernatant* difilter menggunakan membran filter berukuran 0,45 mm milipore. Direndam blank disc pada *cell free supernatant* yang telah difilter. (Detha et al., 2020; John & Lennox, 2019).

2. Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

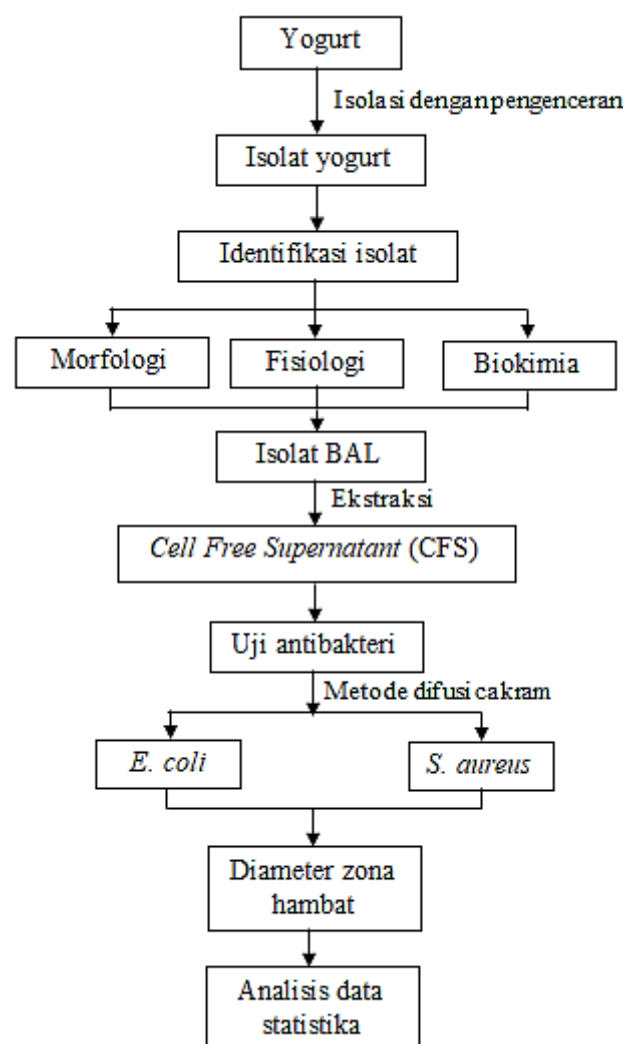
Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode Kirby Bauer atau difusi cakram. Diawali dengan membuat media MHA (*Muller Hinton Agar*) dengan cara media MHA sebanyak 2,4 gram ditambahkan dengan 83,5 mL aquades, kemudian dihomogenkan dengan dipanaskan sampai jernih. Media MHA dituang ke dalam 4 cawan petri yang akan digunakan dan ditunggu hingga memadat. Kemudian digorekan bakteri uji yaitu *E.coli* dan *S.aureus* pada media MHA menggunakan cottonbud. Selanjutnya diletakkan kontrol positif (Klorampenikol disc), kontrol negatif (aquades) dan blank disc hasil rendaman CFS pada media MHA yang telah digores bakteri uji sebelumnya. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (John & Lennox, 2019). Apabila terdapat zona hambat, maka zona hambat yang terbentuk diukur diameter area beningnya menggunakan jangka sorong.

4.5.6 Analisis Data

Data kualitatif yang terdiri dari morfologi sel dan karakteristik biokimia dianalisis menggunakan metode deskriptif. Data dari parameter kuantitatif yaitu diameter zona hambat dianalisis menggunakan metode One-way ANOVA dengan program SPSS versi 26. Datadiuji terlebih dahulu dengan pengujian normalitas kemudian homogenitas sebagai prasyarat analisis data sebelum melakukan uji statistika. Uji normalitas bertujuan untuk memperlihatkan bahwa data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak. Normalitas dipenuhi jika hasil signifikan dengan taraf signifikan ($\alpha = 0,05$). Apabila nilai signifikan lebih besar dari α , maka data tersebut terdistribusi normal. Sebaliknya apabila nilai

signifikansi lebih kecil dari α , maka data tersebut tidak terdistribusi normal. Data yang telah memenuhi persyaratan normal dan homogen selanjutnya akan dilakukan uji ANOVA, apabila p value $< 0,05$ maka dilakukan uji lanjutan post hoc Tukey HSD.

4.6 Kerangka Prosedur



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Yogurt Yumoo



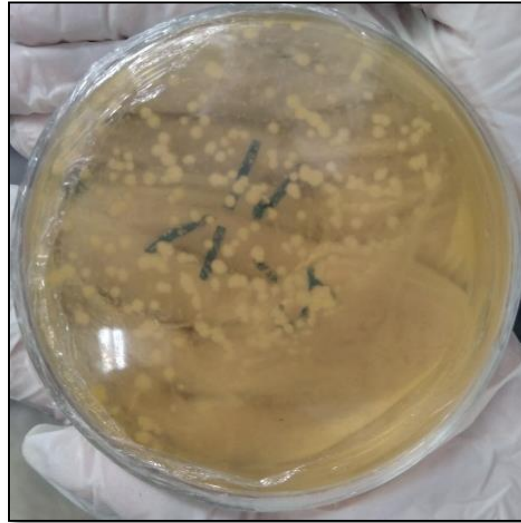
Gambar 5.1 Produk Yoghurt Yumoo

Yoghurt Yumoo merupakan produk susu fermentasi hasil industri rumahan di kecamatan Pujon, Kabupaten Malang. Produk ini dipasarkan di daerah pujon, mayoritas konsumennya adalah anak-anak hingga dewasa. Selama dipasarkan, minuman yoghurt ini disimpan dalam ruangan atau tempat/wadah yang bersuhu rendah. Dimana kondisi lingkungan yang ada dapat menjamin minuman susu fermentasi tidak mengalami kerusakan selama dipasarkan. Kemasan yang digunakan adalah botol plastik ukuran 250 ml. tekstur dari yogurt Yumoo adalah kental dan homogen dengan rasa dan bau yang asam. Menurut SNI (2009), syarat mutu yogurt yaitu rasa dan bau yang asam/khas serta tekstur yang homogen.

5.2 Isolasi Bakteri Asam Laktat Yoghurt

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt Yumoo dilakukan dengan cara pengenceran mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-4} . Pengenceran bertujuan untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah ketika ditumbuhkan di medium. Hasil pengenceran ditanam dalam media MRS agar dengan metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi 48 jam. Media MRS agar merupakan media selektif yang digunakan untuk menumbuhkan dan memelihara bakteri tertentu sehingga dapat menyeleksi BAL dengan sifat khususnya (Ningsih et al., 2018). Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan didapat beberapa isolat yang tumbuh pada media MRSA. Isolat yang tumbuh dikarakterisasi morfologi koloni yang meliputi bentuk koloni, permukaan koloni dan warna koloni.

Hasil dari penumbuhan isolat BAL di media MRSA (gambar 5.1) didapat bentuk morfologi koloni yaitu berbentuk bulat (*circular*), tepi rata (*entire*), permukaan cembung (*conveks*) dan berwarna putih susu. Diduga semua isolat tersebut adalah ciri-ciri morfologi bakteri asam laktat karena sesuai dengan penelitian Putri & Endang (2018) penumbuhan isolat BAL pada media MRSA menunjukkan hasil koloni yang tumbuh berbentuk circular, tepi koloni bakteri berbentuk entire dan memiliki ciri warna putih yang telah diidentifikasi bahwa koloni yang tumbuh merupakan bakteri asam laktat.



Gambar 5.1 Isolat BAL Yoghurt Yumoo di media MRSA

Koloni yang tumbuh pada media MRSA selanjutnya diambil secara acak menggunakan ose steril dan diinokulasikan dalam media MYE yang telah dibuat sebelumnya. Dari proses kultur tersebut didapat 6 isolat BAL yang siap digunakan untuk uji identifikasi fenotip dan uji aktivitas antibakteri.

5.3 Identifikasi Bakteri Asam Laktat

5.3.1 Morfologi

a. Pewarnaan Gram

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni terpisah pada media MRSA selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram digunakan untuk mengidentifikasi isolat yang diteliti termasuk dalam Gram-positif atau Gram-negatif. Selain digunakan untuk membedakan kelompok bakteri Gram positif dan negatif, pewarnaan Gram juga dapat dilakukan untuk melihat bentuk dan susunan bakteri asam laktat.

Bakteri Gram-positif merupakan bakteri yang mampu mempertahankan zat warna kristal violet dan memperlihatkan warna keunguan, sedangkan bakteri

Gram negatif berwarna merah pada pengamatan di mikroskop. Perbedaan warna pada proses pewarnaan Gram dilihat dari perbedaan struktur dinding sel yang menyusun bakteri (Sya'baniar et al., 2017). Hasil pengamatan mikroskopis dari pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 5.2 yang menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari yoghurt Yumoo merupakan bakteri Gram positif. Hasil positif merupakan sel bakteri berwarna ungu setelah dilakukan pengecatan gram (Gambar 5.2). Hal tersebut disebabkan karena bakteri ini memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol yang menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna kristal violet yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel (Pelczar, 1988).



Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan Gram (perbesaran 100x)

Hasil uji pewarnaan gram terhadap isolat dari BAL Yoghurt Yumoo berwarna ungu dan memiliki bentuk morfologi sel batang dengan susunan berantai. Menurut Sneath (1980), berdasarkan *Bergey's Manual of Systemic*

Bacteriology, kelompok bakteri asam laktat memiliki karakteristik berbentuk batang mempunyai katalase negatif dan hasil pengecatan gram bersifat positif.

5.3.2 Fisiologi

a. Uji Endospora

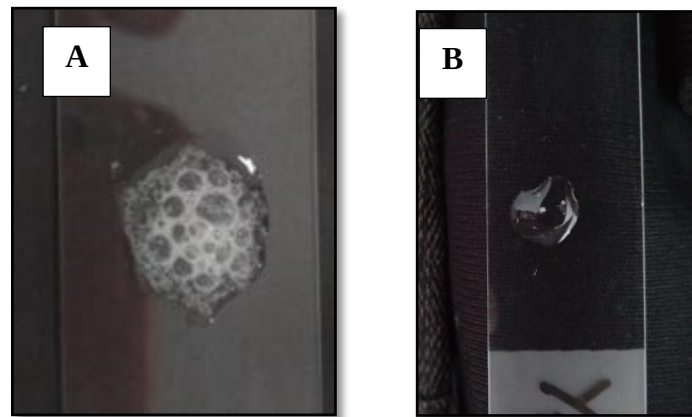
Langkah selanjutnya dilakukan pewarnaan endospora pada isolat hasil uji pewarnaan gram yang berbentuk basil. Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan endospora oleh bakteri. Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia. Tujuan dilakukannya pewarna endosporan adalah membedakan endospora dengan sel vegetatif sehingga perbedaannya tampak jelas (Itis, 2008). Hasil pewarnaan endospora pada isolat BAL menunjukkan hasil negatif karena tidak terlihatnya spora pada mikroskop perbesaran 100x.

b. Uji Motilitas

Berdasarkan hasil pengamatan uji motilitas, isolat Yoghurt menunjukkan hasil non motil yaitu dengan ditandai tidak adanya pergerakan bakteri selama masa inkubasi 48 jam yang terlihat dengan tidak terbentuknya rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose pada media SIM. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar (motil), sedangkan uji negatif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya berupa satu garis (non motil) (Yulvizar, 2013).

5.3.3 Biokimia

a. Uji Katalase



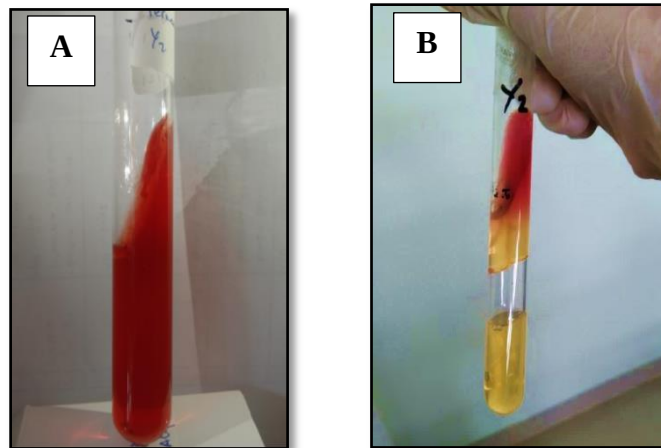
Gambar 5.3 Perbandingan Hasil Uji Oksidase
 Dengan A = katalase positif (Hayati et al., 2019), B = Hasil Penelitian

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. (Stamer, 1979). Hasil uji katalase pada isolat bakteri menunjukkan hasil negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung gas yang berisi oksigen ketika isolat ditetesi dengan larutan H_2O_2 . Hal ini sesuai dengan penelitian Stamer (1979) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk dengan katalase negatif. Bakteri asam laktat memiliki sifat anaerob tetapi mampu mentoleransi adanya oksigen dan memetabolisme karbohidrat melalui jalur fermentasi (Panjaitan et al., 2020).

b. Uji Fermentase Karbohidrat

Media yang digunakan pada uji fermentasi karbohidrat adalah media TSIA yang berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa dengan menggunakan indikator fenol merah. Hasil uji fermentasi karbohidrat didapatkan bahwa isolat BAL mampu memfermentasikan karbohidrat yang ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning. Warna merah pada permukaan dan

kuning di bagian bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa tetapi bukan laktosa dan sukrosa (Fardiaz, 1989).



Gambar 5.3 Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat
Dengan A = Sebelum perlakuan, B = Sesudah perlakuan

Berdasarkan uji yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa isolat BAL yoghurt Yumoo dapat memfermentasi glukosa karena terdapat perubahan warna media TSIA dari merah menjadi kuning pada bagian bawah tabung reaksi. Kemudian pada bagian tengah media terdapat ruang hasil terbentuknya CO_2 dari proses fermentasi BAL. CO_2 merupakan hasil dari produk fermentasi BAL secara heterofermentatif. Mekanismenya adalah CO_2 bekerja dengan suasana anaerob, selanjutnya menghambat kerja enzim dekarboksilase dalam membran lipid sehingga tidak mempunyai fungsi sebagai permeabilitas (Hotchkiss, 1999). Sehingga kelompok BAL diidentifikasi bersifat heterofermentatif yang memfermentasikan glukosa menjadi asam laktat, asam asetat, asam propionat, hydrogen peroksida, alkohol, CO_2 , dan bakteriosin (Widowati et al., 2014).

c. Uji Oksidase

Uji oksidase berfungsi untuk mengetahui adanya sitokrom oksidase yang ditemukan pada mikroorganisme tertentu. Bila koloni bakteri yang bersifat oksidase positif diletakkan di oksidase disk, maka disk akan berubah warna menjadi biru yang nampak dalam waktu 10-15 detik (Tjahjaningsih et al., 2016). Perubahan disebabkan karena sitokrom oksidase mengoksidase reagen sehingga menyebabkan perubahan warna yang lebih gelap. Menurut hasil uji yang telah dilakukan, isolat BAL yoghurt Yumoo tidak menghasilkan enzim sitokrom oksidase karena terlihat tidak terjadi perubahan warna pada oksidase disk. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak melakukan metabolisme energi melalui respirasi.

Tabel 5.1 Ringkasan Hasil Identifikasi Isolat Yoghurt

Uji Identifikasi		Hasil
Morfologi	Pewarnaan gram	Ungu
	Bentuk	Basil
Fisiologi	Uji Endospora	Negatif
	Uji Motilitas	Negatif
Biokimia	Uji Katalase	Negatif
	Uji Fermentasi Karbohidrat	Positif
	Uji Oksidase	Negatif

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dirangkum pada Tabel 5.1 dapat diidentifikasi bahwa isolat yang diuji merupakan isolat bakteri asam laktat karena memiliki ciri-ciri yang sesuai dengan pernyataan Teuber (1988) tentang bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri Gram-positif, tidak membentuk spora dan termasuk pada bakteri anaerobik yang menghasilkan asam laktat sebagai

produk fermentasi dengan menggunakan karbohidrat sebagai sumber fermentasinya.

Hasil dari pewarnaan gram menunjukkan isolat memiliki bentuk sel batang yang berdempetan satu sama lain, merupakan jenis gram positif, katalase negatif dan tidak memiliki spora. Sehingga diduga termasuk dalam genus *Lactobacillus*. Holt *et al.*, (1994) dalam *Bergey's manual of determinative bacteriology* yang menyatakan genus *Lactobacillus* mempunyai sifat katalase negatif dan Gram-positif dengan bentukan morfologi basil. Hasil ini sesuai dengan penelitian Prabhurajeshwar and Chandrakanth (2019) yang mengisolasi bakteri asam laktat dari Yoghurt dengan ciri berbentuk basil, concex, rough, smooth, shiny, irregular, circular, gram-positif, fakultatif anaerobic, nonspora yang diindikasikan dalam kelompok genus *Lactobacillus* spp.

Lactobacillus merupakan jenis bakteri dengan genus terbesar dalam kelompok bakteri asam laktat. Memiliki hampir 106 spesies dengan sekitar 60 spesies berpotensi probiotik. Stamer (1979) mengatakan bahwa genus *Lactobacillus* dapat bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Jenis homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat dari metabolisme gula, sedangkan jenis heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam-asam volatil lainnya, alkohol dan ester. Isolat bakteri asam laktat yang diuji menghasilkan gelembung yang menandakan BAL termasuk obligat heterofermentatif. Genus *Lactobacillus* yang termasuk dalam obligat heterofermentatif antara lain *L.brevis*, *L.buchneri*, *L. fermentum*, *L. reuteri* (Aini *et al.*, 2021).

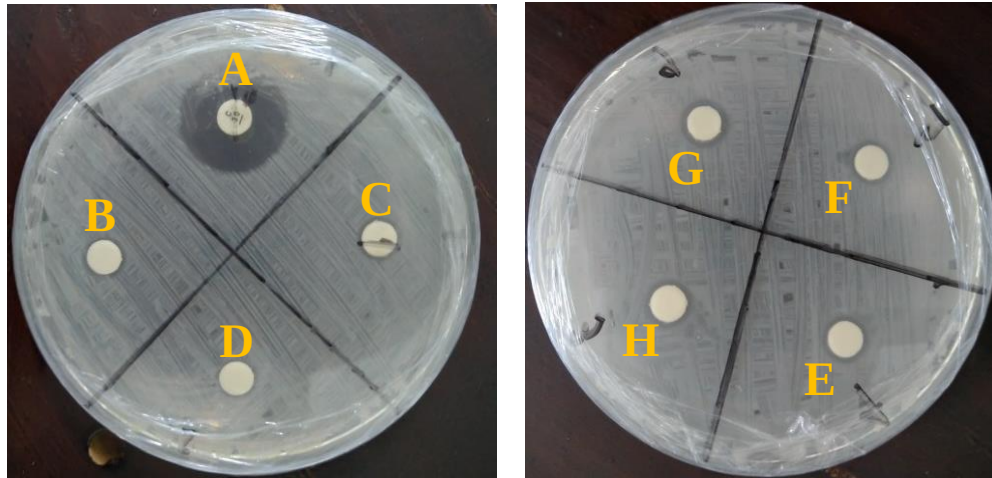
5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri uji berupa *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang mewakili golongan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Penggunaan kedua bakteri ini bertujuan untuk mengetahui spektrum dari senyawa antibakteri yang terdapat pada isolat BAL yoghurt Yumoo. Suatu zat dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan keduanya, dan berspektrum sempit apabila hanya menghambat salah satu dari golongan bakteri tersebut (Pelczar, 1988).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode kertas cakram (Kirby Bauer) yaitu dengan menempelkan kertas cakram dengan ukuran ± 6 mm yang telah direndam dalam CFS (*Cell Free Supernatan*) isolat BAL pada media MHA yang sebelumnya telah ditanam dengan bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli*. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol disk dengan kekuatan 30 μg dan kontrol negatif berupa aquades steril. Hasil dari uji aktivitas antibakteri adalah dengan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar cakram.

5.4.1 *Escherichia coli*

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa CFS isolat BAL memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *E.coli*. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas antibakteri disajikan dalam Tabel 5.2.



Gambar 5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *E.coli*.
Dengan A = K+ (kloramfenikol), B = K- (Aquades), C-H = isolat Y1-Y6.

Tabel 5.2 Zona Hambat Isolat BAL Yoghurt Yumoo Terhadap *Escherichia coli*

Sampel	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	Rata-rata $\pm$ SD (mm)
K+	18,10	19,40	18,80	$18,76 \pm 0,65$
K-	6,70	6,70	6,70	$6,70 \pm 0,00$
Y1	8,55	8,65	8,50	$8,55 \pm 0,08$
Y2	8,30	8,10	8,40	$8,26 \pm 0,15$
Y3	8,90	9,25	9,20	$9,11 \pm 1,89$
Y4	8,60	8,90	8,60	$8,70 \pm 0,17$
Y5	8,90	8,80	9,10	$8,93 \pm 0,15$
Y6	9,40	9,35	9,65	$9,46 \pm 0,16$

Untuk mengetahui perbedaan daya hambat antar kelompok terhadap pertumbuhan *E.coli* dilakukan uji statistik menggunakan uji One Way ANOVA. Berdasarkan hasil uji ANOVA pada Tabel 5.2, menunjukkan bahwa daya hambat perlakuan uji terhadap *Escherichia coli* berbeda secara bermakna dimana diperoleh nilai $p \ 0,000 < 0,05$, sehingga dilanjutkan uji lanjutan Post-Hoc Tukey HSD.

Tabel 5.3 Ringkasan Analisis Data Post Hoc Tukey HSD pada *E.coli*

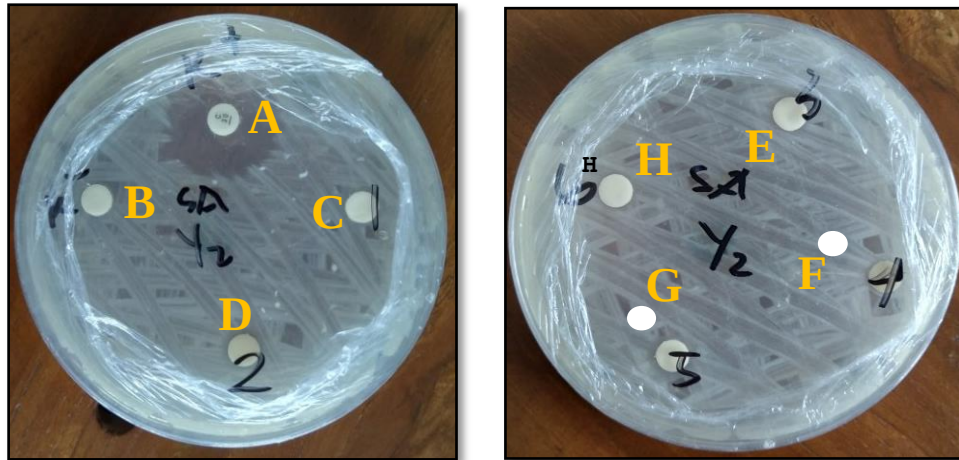
Sampel	K+	K-	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
K+	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K-	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Y1	0,000*	0,000*	-	0,864	0,251	0,998	0,696	0,014*
Y2	0,000*	0,000*	0,864	-	0,021*	0,515	0,103	0,001*
Y3	0,000*	0,000*	0,251	0,021*	-	0,560	0,987	0,739
Y4	0,000*	0,000*	0,998	0,515	0,560	-	0,954	0,044*
Y5	0,000*	0,000*	0,696	0,103	0,987	0,954	-	0,282
Y6	0,000*	0,000*	0,014*	0,001*	0,739	0,044*	0,282	-

Keterangan: * = berbeda signifikan

Hasil analisis data uji Post Hoc Tukey HSD (Tabel 5.3) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan isolat BAL. Hal ini menandakan bahwa isolat bakteri asam laktat yang diuji memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*. Dengan rerata diameter zona hambat terbaik yang dihasilkan isolat BAL yaitu pada Y6 sebesar $9,46 \pm 0,16$ mm dan termasuk kategori aktivitas antibakteri sedang (Arora, 1997).

5.4.2 *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran diameter zona hambat (Gambar 5.5) menunjukkan bahwa CFS isolat BAL Yoghurt Yumoo memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S.aureus* yang disajikan dalam Tabel 5.4.



Gambar 5.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *S.aureus*. Dengan A = K+ (kloramfenikol), B = K- (Aquadest), C-H = isolat Y1-Y6.

Uji analisis statistik ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan daya hambat antara perlakuan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji ANOVA pada Tabel 5.4, menunjukkan bahwa daya hambat isolat BAL Yoghurt Yumoo terhadap *Staphylococcus aureus* berbeda secara bermakna ditandai oleh nilai $p < 0,001 < 0,05$, sehingga perlu dilanjutkan uji Post-Hoc Tukey HSD untuk mencari perbedaan signifikan pada tiap perlakuan.

Tabel 5.4 Zona Hambat Isolat BAL Yoghurt Yumoo Terhadap *S. aureus*

Sampel	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	Rata-rata $\pm$ SD(mm)
K+	24,70	25,10	24,60	$24,8 \pm 0,26$
K-	6,70	6,70	6,70	$6,70 \pm 0,00$
Y1	7,10	7,00	7,00	$7,03 \pm 0,05$
Y2	7,00	7,00	7,00	$7,00 \pm 0,00$
Y3	7,00	7,30	6,90	$7,06 \pm 0,20$
Y4	7,00	6,60	6,75	$6,78 \pm 0,20$
Y5	6,85	6,95	7,05	$6,95 \pm 0,10$
Y6	7,30	7,25	7,35	$7,30 \pm 0,05$

Tabel 5.5 Ringkasan Analisis Data Post Hoc Tukey HSD pada *S.aureus*

Sampel	K+	K-	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
K+	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K-	0,000*	-	0,163	0,254	0,100	0,996	0,454	0,002*
Y1	0,000*	0,163	-	1,000	1,000	0,454	0,996	0,380
Y2	0,000*	0,254	1,000	-	0,999	0,617	1,000	0,254
Y3	0,000*	0,100	1,000	0,999	-	0,313	0,971	0,534
Y4	0,000*	0,996	0,454	0,617	0,313	-	0,845	0,009*
Y5	0,000*	0,454	0,996	1,000	0,971	0,845	-	0,128
Y6	0,000*	0,002*	0,380	0,254	0,534	0,009*	0,128	-

Keterangan: * = berbeda signifikan

Hasil analisis data uji Post Hoc Tukey HSD yang diringkaskan pada Tabel 5.5 menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara diameter zona hambat kontrol positif dengan semua perlakuan. Terdapat hasil tidak berbeda signifikan antara kontrol negatif dengan semua isolat BAL kecuali pada isolat Y6, hal ini menandakan bahwa semua isolat kecuali Y6 hampir tidak memiliki aktivitas antibakteri seperti halnya kontrol negatif. Meski demikian, isolat Y6 sebagai penghasil diameter zona hambat terbaik yaitu sebesar $7,30 \pm 0,05$ mm, aktivitas antibakterinya masih termasuk dalam kategori lemah (Arora, 1997).

5.4.3 Pembahasan

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian adalah kloramfenikol disk. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas dan bersifat bakteristatis namun dapat pula bersifat bakterisidal dalam konsentrasi tinggi. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein dengan mengikat 50S subunit ribosom (Oong & Tadi, 2020). Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada Tabel 5.3 dan Tabel 5.5, kloramfenikol dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kemampuan daya

hambat terbesar dan dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada kedua patoge uji karena termasuk dalam rentang >12 mm (Arora, 1997). Kontrol negatif berupa aquades steril membentuk zona hambat yang kecil pada kedua bakteri patogen yakni sebesar 6,7 mm, hal ini menunjukkan kontrol negatif dapat dikatakan tidak memiliki daya hambat .

Efek antibakteri yang dihasilkan oleh isolat BAL Yoghurt Yumoo terhadap *E.coli* berkisar antara 8,26-9,46 mm dengan daya hambat tertinggi terdapat pada isolat Y6 yaitu sebesar 9,46 mm. Berdasarkan Arora (1997) efek antibakteri yang dihasilkan termasuk kategori sedang karena berada dalam rentang 9-12 mm. Hal ini sejalan dengan penelitian Riadi *et al.*, (2017) dimana zona hambat yang dibentuk tiap isolat BAL pada Yoghurt yang diuji terhadap *E.coli* menunjukkan hasil berkisar antara 7-15 mm. Hasil yang serupa juga didapat pada penelitian Poeloengan (2020) dimana yoghurt yang diuji menggunakan metode sumuran memiliki aktivitas antibakteri sebesar 9,07 mm terhadap *Escherichia coli*.

Sementara itu, efek antibakteri pada *S.aureus* menghasilkan diameter zona bening sebesar 6,78-7,3 mm dengan daya hambat terbaik terdapat pada isolat Y6 yang menandakan potensi antibakteri termasuk dalam kategori lemah (Arora, 1997). Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Wigati *et al.*, (2019) yang menguji aktivitas antibakteri pada Yoghurt susu sapi terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* menghasilkan diameter daya antibakteri berkisar 22,8-26,9 mm dan digolongkan sebagai bahan berkemampuan daya hambat yang tinggi. Namun pada penelitian Khikmah (2015) terkait aktivitas antibakteri dari 4 Yoghurt komersial

terhadap *S.aureus* menggunakan metode sumuran menunjukkan tidak adanya diameter zona bening yang dihasilkan pada semua Yoghurt yang diuji.

Zona hambat terbentuk karena adanya interaksi isolat bakteri asam laktat yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen. BAL menghasilkan enzim hidrolitik yang mampu mendegradasi komponen dinding sel bakteri patogen (Riadi *et al.*, 2017). Perbedaan zona bening yang terbentuk dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam menghasilkan zat antibakteri, jenis dan jumlah zat antimikroba serta umur biakan bakteri (Rasyid *et al.*, 2021). Candrasari *et al.*, (2012) menambahkan bahwa ukuran zona hambat juga dipengaruhi oleh jenis medium kultur, toksisitas bahan uji, interaksi antar komponen medium dan kondisi lingkungan mikro in vitro.

Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan oleh isolat BAL terhadap bakteri patogen gram-positif dan gram-negatif, maka aktivitas antibakteri yang dihasilkan termasuk berspektrum sempit. Isolat BAL menghasilkan daya hambat yang lebih besar pada bakteri Gram-negatif atau *E. coli* dibandingkan pada bakteri Gram-positif atau *S. aureus*. Hal ini sejalan dengan hasil pada penelitian Kamara *et al.* (2016) yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak Yoghurt menggunakan starter *Lactobacillus Bulgaricus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacilus Acidophilus* lebih efektif pada bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Namun berbeda dari hasil penelitian Prabhurajeshwar and Chandrakanth (2019) yang menyatakan aktivitas penghambatan dari BAL genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari Yoghurt memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap *S.aureus* (Gram-positif) daripada *E.coli* (Gram-negatif).

Daya hambat Yoghurt Yumoo yang lebih efektif terhadap bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* diduga disebabkan oleh senyawa antibakteri yang didominasi oleh asam-asam organik (Reis et al., 2012). Asam laktat mampu mengganggu permeabilitas bakteri gram negatif dengan merusak membran luar bakteri gram negatif. Asam laktat merupakan molekul yang larut dalam air sehingga mampu menembus ke dalam periplasma bakteri gram negatif melalui protein porin pada membran luar. Pelindung permeabilitas membran luar adalah lapisan lipopolisakarida (LPS) yang terletak pada permukaan membran yang dirusak oleh asam laktat. Dengan rusaknya membran luar sel, maka senyawa antimikroba lain diantaranya diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin akan masuk dalam membran sitoplasma sehingga merusak aktivitas intraseluler yang pada akhirnya dapat mematikan sel (Khikmah, 2015).

Senyawa antimikroba lain yang diketahui memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri gram negatif adalah diasetil. Diasetil dihasilkan melalui metabolisme sitrat oleh bakteri asam laktat genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Diasetil bekerja dengan mempengaruhi sintesis protein pada bakteri patogen dengan cara bereaksi dengan protein pengikat arginin pada bakteri gram negatif.

Kemampuan BAL menghambat pertumbuhan Gram-negatif lebih baik daripada Gram-positif juga dihasilkan pada penelitian Izudin *et al.*, (2020). BAL yang digunakan adalah *Lactobacillus reuteri*. Aktivitas antibakteri dari *L.reuteri* dihasilkan dari metabolit yang dihasilkannya yaitu reuterin. Reuterin adalah senyawa antimikroba yang mempunyai spektrum yang luas dan memiliki

mekanisme kerja yang mirip dengan asam organik. Senyawa ini efektif terhadap bakteri negatif, kapang, khamir dan protozoa.

Kecilnya kemampuan daya hambat dari BAL terhadap *Staphylococcus aureus* diduga karena *S. aureus* memiliki daya tahan terhadap asam-asam yang dihasilkan oleh BAL selama proses fermentasi. *S. aureus* termasuk golongan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang kuat (terikat secara kovalen) sehingga bakteri ini lebih tahan terhadap asam dan zat antagonik lain yang dihasilkan BAL dibandingkan *E.coli* yang termasuk gram negatif (Lintang et al., 2018). Mekanisme pertahanan bakteri Gram-positif terhadap asam melalui mekanisme pompa proton sehingga mampu menyeimbangkan pH dalam sel dan substrat antimikroba lainnya tidak dapat berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma (Cotter & Hill, 2003).

Kemungkinan lain terkait kecilnya kemampuan daya hambat dari isolat BAL terhadap bakteri Gram-positif dikarenakan senyawa antimikroba yang dihasilkan mengandung sedikit bakteriosin. Berdasarkan penelitian Prissilia et al. (2019) menyatakan senyawa bakteriosin menghasilkan zona penghambatan yang lebih besar terhadap Gram positif dibandingkan dengan Gram negatif. Hasil yang sama juga terdapat pada penelitian Prabhurajeshwar & Chandrakanth (2019) pada bakteriosin yang dihasilkan dari isolat *Lactobacillus* terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Mekanisme penghambatan bakteri Gram positif oleh bakteriosin disebabkan oleh bakteriosin menempel pada bakteri Gram positif dan membentuk kompleks dengan asam lipotekoat yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram positif sehingga dapat mengakibatkan terjadinya destabilisasi pada

dinding. Asam lipotekoat merupakan reseptor spesifik dan terkait dengan pengikatan senyawa bakteriosin. Setelah terjadi pengikatan antara membran sel atau sel reseptor bakteri oleh bakteriosin, terjadi pembentukan pori yang menyebabkan sel bakteri terdegradasi dan pada akhirnya mengalami lisis atau kematian.

Selain bakteriosin, senyawa lain yang memiliki daya hambat adalah hidrogen peroksida. H_2O_2 yang dihasilkan BAL berfungsi untuk melindungi selnya terhadap keracunan oksigen. Berdasarkan penelitian Yani et al., (2014) hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Lactobacillus lactis* hasil isolasi Yoghurt memiliki peran dalam menghambat *S. aureus* (bakteri Gram-positif) akan tetapi, senyawa ini bersifat tidak stabil dan mudah terdekomposisi jika terkena panas yang menyebabkan efek antimikroba menjadi rentan hilang. Aktivitas antibakteri oleh hidrogen peroksida disebabkan karena hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksil ($OH\bullet$) yang bersifat bakterisidal. $OH\bullet$ yang merupakan oksidan kuat dapat merusak protein dan menyebabkan penurunan ATP sehingga menghasilkan energi rendah dalam sel. $OH\bullet$ juga dapat memutus ikatan fosfodiester molekul DNA yang menyebabkan fragmentasi DNA, serta dapat merusak lipid dalam membran sel (Wang, 2020; Feuerstein et al., 2006).

5.5 Perspektif Islam Terkait Penelitian

Penelitian ini menunjukkan dengan adanya ilmu pengetahuan, kita mampu mengetahui berbagai macam hal yang tentunya bertujuan untuk menambah ketauhidan dan kepercayaan kita kepada ajaran-ajaran Allah yang dijelaskan

dalam Al-Qur'an, Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Hajj ayat 54 yang berbunyi:

وَلْيَعْلَمَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّكَ فَيُؤْمِنُوا بِهِ فَتُخْبِتَ لَهُ قُلُوبُهُمْ وَإِنَّ اللَّهَ لَهَادِ الَّذِينَ
 آمَنُوا إِلَى صِرَاطٍ مُسْتَقِيمٍ

Artinya: “dan agar orang-orang yang telah diberi ilmu, meyakini bahwasanya Al-Qur'an itulah yang hak dari Tuhanmu lalu mereka beriman dan tunduk hati mereka kepadanya, dan sesungguhnya Allah adalah pemberi petunjuk bagi orang-orang yang beriman kepada jalan yang lurus” (QS. Al-Hajj ayat 54).

Menurut Abu Hanifah dalam kitab ta'limul muta'alim : “ilmu itu hanya untuk diamalkan (meninggalkan sesuatu yang fana demi sesuatu yang akan datang)”. Jadi hendaknya manusia tidak mengabaikan apa yang bermanfaat dan apa yang berbahaya di dunia dan di akhiratnya, seperti halnya bakteri patogen yang kecil namun dapat membahayakan kesehatan manusia apabila terinfeksi. Adapun Allah SWT telah memfasilitasi umatnya untuk terus berkembang melalui ciptaan-ciptaannya. Semua ciptaan Allah memiliki manfaat dan harus dimanfaatkan. Karena dengan terungkapnya rahasia-rahasia alam melalui hasil penelitian mempertebal keimanan kepada Allah sebagai pencipta alam semesta ini, juga akan menambah khazanah pengetahuan tentang alam untuk dimanfaatkan dalam kesejahteraan hidup umat manusia. Dengan meneliti ciptaan Allah antara lain bakteri dari produk susu fermentasi yaitu yogurt, diharapkan bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia. Sebagaimana firman Allah SWT An-Nahl ayat 66:

وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهِ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبَنًا خَالِصًا سَائِغًا
 لِلشَّرْبَيْنِ

Artinya: “Dan sesungguhnya pada binatang ternak itu benar-benar terdapat pelajaran bagi kamu, kami memberimu minum dari apa yang berada dalam

perutnya. (berupa) susu yang bersih antara tahi dan darah, yang mudah ditelan bagi orang-orang yang meminumnya.”

Pada ayat ini diterangkan, bahwa dalam binatang ternak itu terdapat pelajaran yang menandakan akan keesaan sang Pencipta, seperti susunya yang berada di antara kotoran dan darah, tapi tetap bersih. Hal ini menandakan bahwa hanya Allah-lah yang berhak untuk disembah dan ditaati.

Para penyusun kitab Tafsir al-Muntakhab dalam tafsir Al-Misbah menyatakan, terdiri dari sekian pakar Mesir menanggapi proses terjadinya susu dengan menyatakan bahwa: pada buah dada binatang menyusui terdapat kelenjar yang berfungsi memproduksi air susu. Melalui urat nadi arteri, kelenjar-kelenjar itu mendoatkan suplai berupa zat yang terbentuk dari darah dan chyle (zat-zat dari sari makanan yang telah dicerna) yang keduanya tidak dapat dikonsumsi secara langsung. Selanjutnya kelenjar-kelenjar susu itu menyaring dari kedua zat itu unsur-unsur penting dalam pembuatan air susu dan mengeluarkan enzim-enzim yang mengubahnya menjadi susu yang berwarna dan aromanya sama sekali berbeda dengan zat aslinya. Kata *sa'igham* pada mulanya berarti sesuatu yang mudah masuk ke dalam kerongkongan. Kemudahan yang dimaksud disini bukan saja karena susu adalah cairan, tetapi juga karena dia lezat, bergizi dan mudah diolah menjadi produk yang lebih bermanfaat bagi kesehatan. Salah satunya yogurt yang diteliti memiliki kandungan senyawa antibakteri yang dapat melawan bakteri pathogen penyebab infeksi pada manusia.

Bukti dari adanya aktivitas penghambatan pada BAI yang terkandung dalam yogurt Yumoo dihasilkan diameter zona bening yang bervariasi pada media

yang digunakan. Hasil yang bervariasi karena setiap hal memiliki ketentuan dan ukuran masing-masing sebagaimana firman Allah dalam QS. Al-Furqan ayat 2:

إِلَٰهِ الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمٰوٰتِ وَٱلْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِى الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ۝ ٢

Terjemah: “yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuatan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.”

Kata *qaddar* dalam segi bahasa berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Kata *qaddar* diartikan juga sebagai ketentuan dan sistem yang ditetapkan terhadap segala sesuatu. Ayat ini memberikan penjelasan sesuatunya telah diatur rapi dengan ukuran-ukuran tertentu (Shihab, 2002). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah daya hambat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang diteliti termasuk dalam kategori kecil sampai sedang terhadap bakteri pathogen yang diuji. Diriwayatkan dari Jabir berkata, Rasulullah SAW bersabda:

عن جابر قال : قال رسول الله صلى الله عليه وسلم : « الْمُؤْمِنُ يَأْلَفُ وَيُؤْلَفُ ، وَلَا خَيْرَ فِيمَنْ لَا يَأْلَفُ ، وَلَا يُؤْلَفُ ، وَخَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ »-

“Orang beriman itu bersikap ramah dan tidak ada kebaikan bagi seorang yang tidak bersikap ramah. Dan sebaik-baiknya manusia adalah orang yang paling bermanfaat bagi manusia” (HR. Thabrani Darquthni)

Manfaat yang bisa diberikan kepada orang lain tidak selalu tentang materi tapi juga bisa dengan ilmu yang bermanfaat. Baik ilmu agama maupun ilmu umum. Bahkan, seseorang yang memiliki ilmu yang kemudian disebarkan kepada orang lain dan membawa kemanfaatan bagi orang tersebut dengan datangnya hidayah kepada-Nya, maka ini adalah keberuntungan yang sangat besar. Demikian

hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan kontribusi pada dunia kesehatan.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian pada uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari Yoghurt merek Yumoo dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat dalam produk Yoghurt Yumoo adalah bakteri Gram positif, berbentuk basil, non motil, katalase negatif, oksidase negatif dan dapat menghasilkan asam laktat melalui proses fermentasi karbohidrat.
2. Isolat bakteri asam laktat dalam Yoghurt Yumoo memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 4,9 mm.
3. Isolat bakteri asam laktat dalam Yoghurt Yumoo memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 22,2 mm.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat (BAL) Yoghurt Yumoo peneliti memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait identifikasi genotip isolat bakteri asam laktat yang diuji.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait jenis senyawa yang berperan dalam penghambatan bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Bari, S. (2008). *Pelayanan Kesehatan Maternal Dan Neonatal*.
- Aini, M., Rahayuni, S., , Vivi Mardina, Q., & Asiah, N. (2021). BAKTERI *Lactobacillus* spp DAN PERANANNYA BAGI KEHIDUPAN. *Jurnal Jeumpa*, 8(2), 614–624.
- Al-Qur'an dan terjemahan. 2017. Kementrian Agama Republik Indonesia.
- Aminingsi, T., Nashrianto, H., & Rohman, A. S. (2012). Antibacterial potential of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and identification of organic substances of bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) hexane extract. *Jurnal Fitomarfaka*, 2(1), 18–26.
- Anika Candrasari, M. Amin Romas, Masna Hasbi, O. R. A. (2012). Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav .) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 , *Escherichia coli* ATCC 11229 Dan *Candida*. *Biomedika*, 4(1), 9–16.
- Anita R Sidabutar, Feliatra, A. D. (2014). *UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERIOSIN DARI BAKTERI PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI UDANG WINDU (Penaeus monodon Fabricus)*. 1–13.
- Arini, L. D. D. (2017). Pemanfaatan Bakteri Baik dalam Pembuatan Makanan Fermentasi yang Bermanfaat untuk Kesehatan. *Biomedika*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.31001/biomedika.v10i1.218>
- Arora, D. S. dan B. (1997). *Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants*. Geo. Bios.
- Aznury, M., & Zikri, A. (2019). PENGUJIAN ORGANOLEPTIK PRODUK YOGURT DENGAN PENAMBAHAN VARIASI KONSENTRASI DAUN KELOR (*Moringa oleifera*). *Jurnal Fluida*, 12(1), 15–20.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. F. (2001). *Medical Microbiology* (2nd ed.). Mc. Graw Hill.
- Burton, G. R. W. and Engelkirk, P. G. (2004). *Microbiology for the Health Sciences* (7th ed.). Crawfordsville.
- Campbell, M. &. (2002). *Biologi* (5 Jilid 1). Erlangga.
- Cappuccino, JG. & Sherman, N. (1987). *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Chandan, R. C. (2007). Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. In *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470277812>
- Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the Acid Test : Responses of Gram-Positive Bacteria to Low pH. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 67(3), 429–453. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.3.429>
- D, M. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zhibetinus* L), Daun Lengkek (*Dimorcapus longan* Lour), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappacium* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi, Jakarta: F*.

- Daeschel, M. A. (1989). Antimicrobial Substances From Lactid Bacteria For Use as Food Preservatives. *Food Technolocy*, 43(1), 164–167.
- Depkes. (2011). *Riset Kesehatan Dasar*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan.
- Depkes, R. (1995). *Farmakope Indonesia* (4th ed.). Depkes Ri.
- Detha, A. (2019). Karakteristik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Susu Kuda Sumba. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 85–92. <https://doi.org/10.35508/jkv.v7i1.1058>
- Detha, A., Rohi, N. K., Foeh, N., Ndaong, N., & Umbu, F. (2020). Detection of Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria from Sumba Mares Milk against *Bacillus cereus* , *Staphylococcus aureus* , and *Escherichia coli*. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, XX(X), 1–8.
- Djannatun, E. D. M. dan T. (2016). Teknik Firm Agar untuk Isolasi Bakteri Menjalar Firm Agar Technique for Isolation of Swarming Bacteria. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 24(2), 121–141.
- Dr. Didimus Tanah Boleng, M. K. (2015). *Bakteriologi: Konsep-Konsep Dasar*. UMM Press.
- DS, M. (2010). *Escherichia coli Infection*. Chelsea House.
- Dwidjoseputro, D. (1980). *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta : Gramedia.
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics : Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4(January), 90–101.
- Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi.
- Feuerstein, O., Moreinos, D., & Steinberg, D. (2006). Synergic antibacterial effect between visible light and hydrogen peroxide on *Streptococcus mutans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57, 872–876. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl070>
- Fitri, W. N., & Rahayu, D. (2018). Akitivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Melastomataceae terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Farmaka*, 16(2), 69–77.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Hidayati, S. N. (2016). 7. PERTUMBUHAN *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI FESES ANAK AYAM BROILER TERHADAP EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) The Effect of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) Extract on the Growth of *Escherichia coli* Isolated fro. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1), 2007–2010. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v10i2.4636>
- Holt, J. G., Noel R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James T. Staley, S. T. W. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott William and Wilkins.

- Horackova, S., & Plockova, M. (2015). Fermentation of Soymilk by Yoghurt and Bifidobacteria Strains Fermentation of Soymilk by Yoghurt and Bifidobacteria Strains. *Czech J. Food Sci*, 4(33), 313–319. <https://doi.org/10.17221/115/2015-CJFS>
- Hotchkiss JH, Chen JH, L. H. (1999). Combined Effects Of Carbon Dioxide Addition and Barrier Films on Microbial and Sensory Changes in Pasteurized Milk. *J. Dairy Sci*.
- Irianto, K. (2013). *Mikrobiologi Medis: Pencegahan, Pangan dan Lingkungan*. Bandung: Alfabeta.
- Izudin, I., Regar, R., Wahyuningsih, A., & Hanifa, I. (2020). Daya Hambat *Lactobacillus Reuteri* Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2).
- Jannah, A. M., Legowo, A. M., Pramono, Y. B., & Al-baarri, A. N. (2014). *Total Bakteri Asam Laktat , pH , Keasaman , Citarasa dan Kesukaan Yogurt Drink dengan Penambahan Ekstrak Buah Belimbing*. 3(2).
- Jawetz, Melnick, J.L., Adelberg, E. A. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran* (20th ed.). EGC.
- John, G. E., & Lennox, J. A. (2019). Antibacterial activity of cell free supernatant of lactic acid bacteria isolated from food samples against food borne pathogens. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 10(6), 1037–1054. https://www.researchgate.net/publication/334263266_ANTIBACTERIAL_ACTIVITY_OF_CELL_FREE_SUPERNATANT_OF_LACTIC_ACID_BACTERIA_ISOLATED_FROM_FOOD_SAMPLES_AGAINST_FOOD_BORNE_PATHOGENS
- Kamara, D. S., Rachman, S. D., Pasisca, R. W., Djajasoepana, S., Suprijana, O., Idar, I., & Ishmayana, S. (2016). Pembuatan dan Aktivitas Antibakteri Yogurt Hasil Fermentasi Tiga Bakteri (*Lactobacillus Bulgaricus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus Acidophilus*). *Al-Kimia*, 4(2), 22–32. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v4i2.1680>
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated Smoked Fish Pinekuhe from Traditionally Processed from Sangihe District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 188. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i1.16506>
- Karsinah, Lucky, H.M., Suharto, Mardiatuti, H. . (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran : Batang Negatif Gram Escherichia*. Binarupa Aksara Publisher.
- Katzung. (2004). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Salemba Medika.
- Kemetrician. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia tahun 2018*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Khikmah, N. (2015). Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial Pada Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20(1), 45–52.
- Langa, S., Montiel, R., Landete, J. M., Medina, M., & Arqués, J. L. (2014). Short communication : Combined antimicrobial activity of reuterin and diacetyl against foodborne pathogens. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6116–6121. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8306>

- Lee, K.Y., and S. S. (2009). *Handbook of probiotics & prebiotics* (2nd ed.). John Wiley and sons.
- Lintang, A., Lestari, D., Permana, A., Medik, P. B., Nasional, U., & Haji, R. S. (2018). DAYA HAMBAT PROPOLIS TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *E-Journal*.
- Lusiana Putri Hamami, Lilis Majidah, E. S. (2020). IDENTIFIKASI *Staphylococcus aureus* PADA IKAN ASIN (Studi Di Pasar Legi Jombang). 778–783.
- Madigan, M. T. (2000). *Nutrition Metabolism*. Brock Biology of Microbiology.
- Malaka, R., & Laga, A. (2005). Isolasi Dan Identifikasi *Lactobacillus Bulgaricus* Strain Ropy Dari Yogurt Komersial. *Sains & Teknologi*, 5(1), 50–58.
- Melliawati, R. (2009). ESCHERICHIA COLI dalam kehidupan manusia. *BioTrends*, 4(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/b978-012220751-8/50013-6>
- Neu, H.C, dan Gootz, T. . (2001). Antimicrobial Chemotherapy. In *Medical Microbiology* (5th ed.). The university of Texas Medical Branch.
- Ningsih, N. P., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). OPTIMASI AKTIVITAS BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH *Lactobacillus brevis* DARI ES PISANG IJO. *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 7(2), 233–242.
- Nychas, T. C. C. & G. J. E. (2000). *Traditional Preservatives-oil and Spices*. *Emcyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press.
- Panjaitan, F. J., Bachtar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., Wharisma, & Indriyani. (2020). Karakterisasi mikroskopis dan uji biokimia bakteri pelarut fosfat (bpf) dari rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian Dan Lingkungan*, 1(10), 9–17.
- Pattuju, S. M., . F., & Manampiring, A. (2014). Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Pada Urine, Feses Dan Kalkulus Gigi Pada Individu Di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal E-Biomedik*, 2(2), 532–540. <https://doi.org/10.35790/ebm.2.2.2014.5108>
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press.
- Permana, A. B. (2006). Studi Aktivitas Antibakteri dan Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Produk Minuman Susu Fermentasi yang Beredar di Kota Malang. *Skripsi*.
- Pertanian, K. (2019). Jawa Timur , Daerah Penghasil Susu Segar Terbesar Nasional pada 2019. 2019.
- Poeloengan, M. (2020). PENGUJIAN YOGHURT PROBIOTIK PADA PERTUMBUHAN BAKTERI. *Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas*, 303–307.
- Prabhurajeshwar, C., & Chandrakanth, K. (2019). Evaluation of antimicrobial properties and their substances against pathogenic bacteria in-vitro by probiotic *Lactobacilli* strains isolated from commercial yoghurt. *Clinical Nutrition Experimental*, 23, 97–115. <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.001>
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.
- Pribadi, A. D., Yudhana, A., & Chusniati, S. (2020). Isolasi dan Identifikasi *Streptococcus sp* . dari Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis di

- Purwoharjo Banyuwangi. 3(1), 51–56.
<https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.51-56>
- Prissilia, N., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Determination of Optimum Time of Bacteriocin Production from *Lactobacillus plantarum* to Pathogen Bacteria Staphyl. *Jurnal Universitas Tanjungpura*, 4(1).
- Purnomo, Apridamayanti, S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Minuman Yoghurt Dengan Starter *Lactobacillus Casei* Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Putri, A. L. O., & Kusdiyantini, dan 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.
- R. Vasanthakumari. (2007). *Textbook of Microbiology*. BI Publications.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC.
- 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* ISOLATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY TEST OF LACTIC ACID BACTERIA FROM BLONDO VIRGIN COCONUT OIL AGAINST *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56–67. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11070>
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds : Characteristics and Applications. *Food Eng Rev*, 4, 124–140. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>
- Riadi, S., Situmeang, S. M. ., & Musthari, M. (2017). ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI YOGHURT DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*, 3(3), 144. <https://doi.org/10.24114/jbio.v3i3.8302>
- Rukmana, R. (2001). *Yogurt dan Karamel Susu*.
- Shihab, M. Q. (1996). *Wawasan Al-Qur'an*. Mizan.
- Sneath, P.H.A, N.S. Mair, M.E Sharpe, J. . H. (1980). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (W. and Wilkins (ed.)).
- Yogurt, (2009).
- Sopandi, T. dan W. (2014). *Mikrobiologi Pangan*. ANDI.
- Stamer, J. . (1979). *The Lactic Acid Bacteria: Microbe of Diversity, Food Tecnology*.
- Sukrama, I. D. M. (2019). *Probiotik Bifidobacteria: Peran Aktivitas Antagonis Melawan Patogen Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun*. PT. Intisari Sains Medis.
- Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Oseana*, 41(4), 63–71. oseanografi.lipi.go.id
- Svetlana Perović , Gorana Veinović, J. A. S. (2018). A Review On Antibiotic

- Resistance: Origin And Mechanisms Of Bacterial Resistance As Biological Phenomenon. *GENETIKA*, 50(3), 1123–1135.
- Sya'baniar, L., Erina, & Arman Sayuti. (2017). *Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria (LAB) Genus Lactobacillus from The Feces of Sumatra Orangutan (Pongo abelii) In Kasang Kulim Zoo Bangkinang Riau*. 01(3), 351–359.
- Teuber, M. (1988). *10 Lactic Acid Bacteria* (H.-J. Rehrn and G. Reed (ed.)). <https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch10>
- Tjahjaningsih, W., Masithah, E. D., Pramono, H., & Suciati, P. (2016). Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla spp.*) Sebagai Kandidat Probiotik
<i>[Activity Enzymatic of Isolate Lactic Acid Bacteria from the Digestive Tract of Mud Crab (Scylla spp.) as a Candidate Pro. Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan, 8(2), 94–108. https://doi.org/10.20473/jipk.v8i2.11182
- Tripathi, K. D. (2003). *Antimicrobial drugs: general consideration Essential of medical pharmacology* (5th ed.). Brothers Medical Publishers.
- Wachidah, I. (2016). Pemanfaatan Umbi Gadung Danumbi Uwi Sebagai Media Alternatif Substitusi Nutrientagar (Na) Untuk Pertumbuhan Bakteri. *Artikel Publikasi*, 1–15.
- Wang, T. F. & J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic : a systematic review. *Gut Microbes*, 12(1), 1–24. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1801944>
- Wardah dan Tatang S. (2014). *Mikrobiologi Pangan* (Maya (ed.); 1st ed.). Yogyakarta: Andi Offset.
- Whitman, Paul De Vos, George M. Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer, W. B. W. (2009). *Bergey's Manual® Of Systematic Bacteriology* (T. Firmicutes (ed.); Second). University of Georgia. Athen.
- Widiyaningsih, E. N. (2011). PERAN PROBIOTIK UNTUK KESEHATAN. *Jurnal Kesehatan*, 4(1), 14–20.
- Widowati, S. dan M. (2003). Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan Dan Bioteknologi Tanaman*.
- Widowati, T. W., Hamzah, B., Wijaya, A., & Pambayun, R. (2014). SIFAT ANTAGONISTIK *Lactobacillus* sp B441 DAN II442 ASAL TEMPOYAK TERHADAP *Staphylococcus aureus* (Antagonism of *Lactobacillus* sp B441 and II442 from Tempoyak against *Staphylococcus aureus*). *Jurnal Agritech*, 34(04), 430–438. <https://doi.org/10.22146/agritech.9438>
- Wigati, D., Sari, W. K., & Kristantri, R. S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Yoghurt Susu Sapi Dan Uht Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(2), 9–12.
- Wikananda, I. D. A. R. N., Hendrayana, M. A., & Pinatih, K. J. P. (2019). EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETHANOL KULIT BATANG TANAMAN CEMPAKA KUNING (*M. champaca* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Medika*, 8(5), 2597–8012.
- Yani, L., Roza, R. M., & Martina, A. (2014). Isolasi Dan Seleksi Bakteri Asam

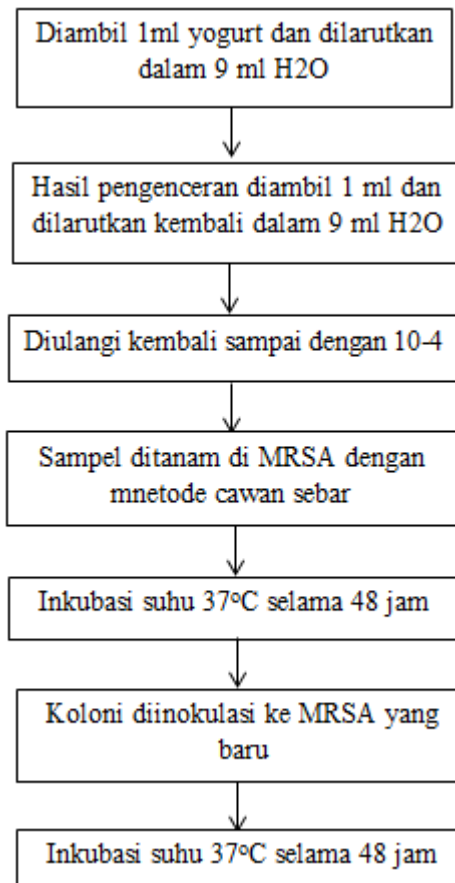
Laktat Dari Yoghurt Produksi Industri Rumah Tangga Di Pekanbaru Yang Bersifat Antibakteri Terhadap Escherichia Coli Dan Salmonella Typhi. *Jurnal Online Mahasiswa Universitas Riau*, 1(1), 1–7.

Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada Rastrelliger sp. *Biospecies*, 6(2), 1–7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

1.1 Isolasi BAL

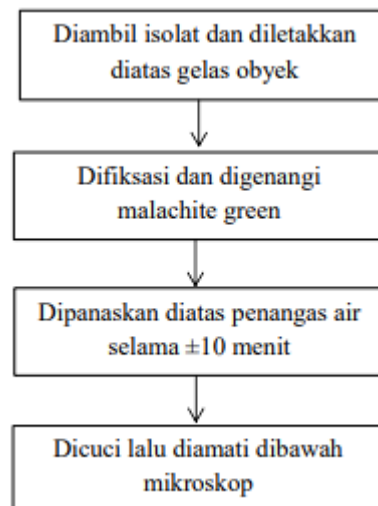


1.2 Identifikasi Isolat BAL

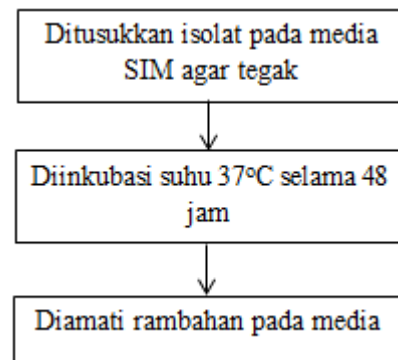
1.2.1 Pewarnaan Gram



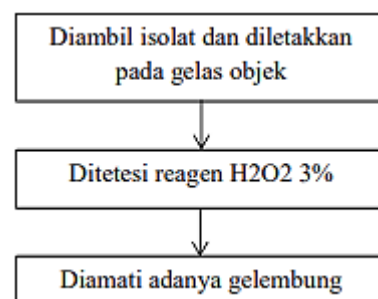
1.2.2 Uji Endospora



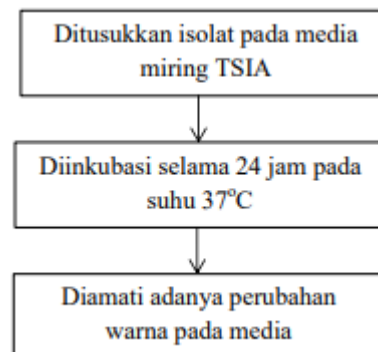
1.2.3 Uji Motilitas



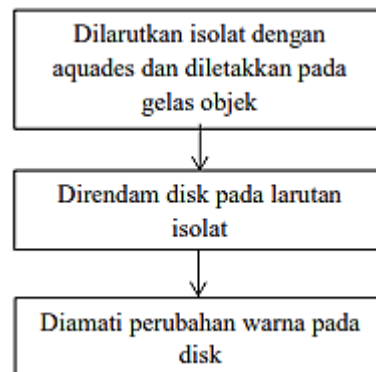
1.2.4 Uji Katalase



1.2.5 Uji Fermentasi Karbohidrat

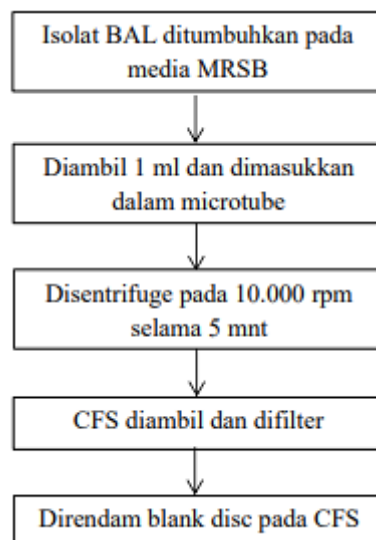


1.2.6 Uji Oksidase

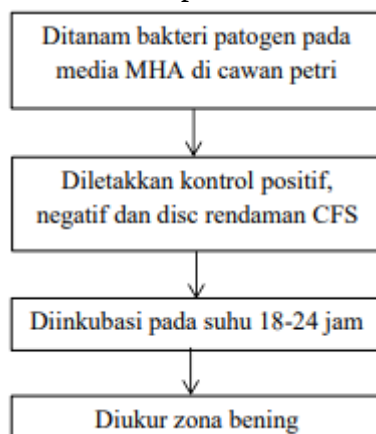


1.3 Uji Aktivitas Antibakteri

1.3.1 Ekstraksi *Cell Free Supernatant* (CFS)



1.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *E.coli* dan *S.aureus*



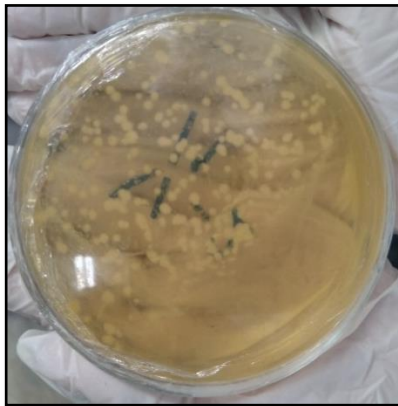
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

2.1 Sampel Yoghurt Yumoo



2.1 Hasil Isolasi BAL

2.1.1 Isolat BAL pada Media MRSA



2.1.2 Culture stock



2.2 Hasil Identifikasi Isolat

2.2.1 Hasil Pewarnaan Gram



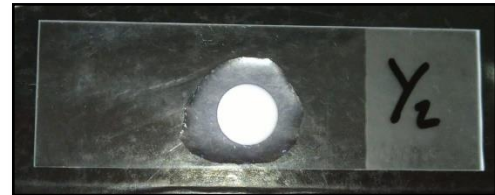
2.2.2 Hasil Uji Endospora



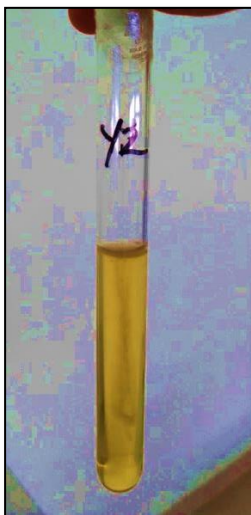
2.2.3 Hasil Uji Katalase



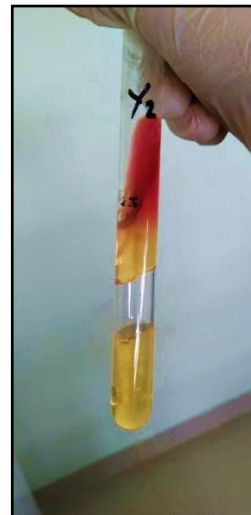
2.2.4 Hasil Uji Oksidase



2.2.5 Hasil Uji Motilitas



2.2.6 Hasil Uji Motilitas

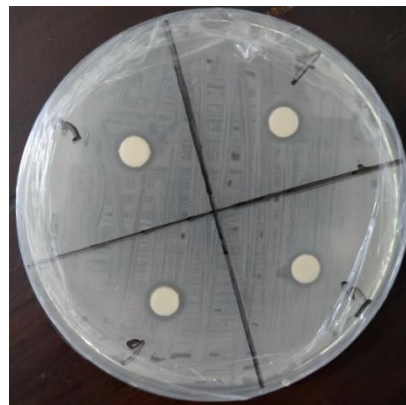
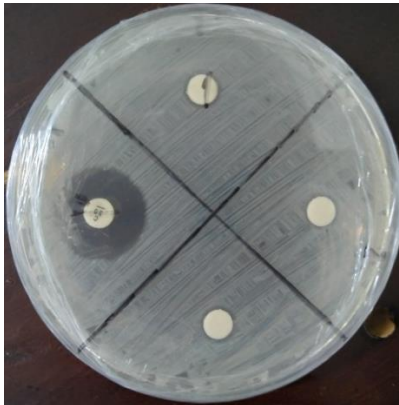


2.3 Hasil Uji Antibakteri

2.3.1 *Staphylococcus aureus*



2.3.2 *Escherichia coli*



Lampiran 3. Hasil Uji Statistika

3.1 Analisis Statistika *E.coli*

3.1.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter_EC
N		21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.5357
	Std. Deviation	.85982
Most Extreme Differences	Absolute	.202
	Positive	.126
	Negative	-.202
Test Statistic		.202
Exact Sig. (2-tailed)		.317
Point Probability		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

3.1.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_EC	Based on Mean	2.488	6	14	.075
	Based on Median	.374	6	14	.884
	Based on Median and with adjusted df	.374	6	8.831	.878
	Based on trimmed mean	2.192	6	14	.106

3.1.3 Uji ANOVA

ANOVA

Diameter_EC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	84245.230	7	12035.033	2266.618	.000
Within Groups	84.955	16	5.310		
Total	84330.185	23			

3.1.3 Uji Post Hoc Tukey HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter_EC

Tukey HSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference		Sig.	95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-12.06667 [*]	.21747	.000	-12.8196	-11.3138
	Y1	-1.86667 [*]	.21747	.000	-2.6196	-1.1138
	Y2	-1.56667 [*]	.21747	.000	-2.3196	-.8138
	Y3	-2.41667 [*]	.21747	.000	-3.1696	-1.6638
	Y4	-2.00000 [*]	.21747	.000	-2.7529	-1.2471
	Y5	-2.23333 [*]	.21747	.000	-2.9862	-1.4804
	Y6	-2.76667 [*]	.21747	.000	-3.5196	-2.0138
K+	K-	12.06667 [*]	.21747	.000	11.3138	12.8196
	Y1	10.20000 [*]	.21747	.000	9.4471	10.9529
	Y2	10.50000 [*]	.21747	.000	9.7471	11.2529
	Y3	9.65000 [*]	.21747	.000	8.8971	10.4029
	Y4	10.06667 [*]	.21747	.000	9.3138	10.8196
	Y5	9.83333 [*]	.21747	.000	9.0804	10.5862
	Y6	9.30000 [*]	.21747	.000	8.5471	10.0529
Y1	K-	1.86667 [*]	.21747	.000	1.1138	2.6196
	K+	-10.20000 [*]	.21747	.000	-10.9529	-9.4471
	Y2	.30000	.21747	.854	-.4529	1.0529
	Y3	-.55000	.21747	.251	-1.3029	.2029
	Y4	-.13333	.21747	.998	-.8862	.6196
	Y5	-.36667	.21747	.696	-1.1196	.3862
	Y6	-.90000 [*]	.21747	.014	-1.6529	-.1471
Y2	K-	1.56667 [*]	.21747	.000	.8138	2.3196
	K+	-10.50000 [*]	.21747	.000	-11.2529	-9.7471
	Y1	-.30000	.21747	.854	-1.0529	.4529
	Y3	-.85000 [*]	.21747	.021	-1.6029	-.0971
	Y4	-.43333	.21747	.515	-1.1862	.3196
	Y5	-.66667	.21747	.103	-1.4196	.0862
	Y6	-1.20000 [*]	.21747	.001	-1.9529	-.4471
Y3	K-	2.41667 [*]	.21747	.000	1.6638	3.1696
	K+	-9.65000 [*]	.21747	.000	-10.4029	-8.8971
	Y1	.55000	.21747	.251	-.2029	1.3029

	Y2	.85000*	.21747	.021	.0971	1.6029
	Y4	.41667	.21747	.560	-.3362	1.1696
	Y5	.18333	.21747	.987	-.5696	.9362
	Y6	-.35000	.21747	.739	-1.1029	.4029
Y4	K-	2.00000*	.21747	.000	1.2471	2.7529
	K+	-10.06667*	.21747	.000	-10.8196	-9.3138
	Y1	.13333	.21747	.998	-.6196	.8862
	Y2	.43333	.21747	.515	-.3196	1.1862
	Y3	-.41667	.21747	.560	-1.1696	.3362
	Y5	-.23333	.21747	.954	-.9862	.5196
	Y6	-.76667*	.21747	.044	-1.5196	-.0138
Y5	K-	2.23333*	.21747	.000	1.4804	2.9862
	K+	-9.83333*	.21747	.000	-10.5862	-9.0804
	Y1	.36667	.21747	.696	-.3862	1.1196
	Y2	.66667	.21747	.103	-.0862	1.4196
	Y3	-.18333	.21747	.987	-.9362	.5696
	Y4	.23333	.21747	.954	-.5196	.9862
	Y6	-.53333	.21747	.282	-1.2862	.2196
Y6	K-	2.76667*	.21747	.000	2.0138	3.5196
	K+	-9.30000*	.21747	.000	-10.0529	-8.5471
	Y1	.90000*	.21747	.014	.1471	1.6529
	Y2	1.20000*	.21747	.001	.4471	1.9529
	Y3	.35000	.21747	.739	-.4029	1.1029
	Y4	.76667*	.21747	.044	.0138	1.5196
	Y5	.53333	.21747	.282	-.2196	1.2862

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

3.2 Analisis Statistika *S.aureus*

3.2.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter_SA
N		21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.9762
	Std. Deviation	.21132
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.169

Negative	-.164
Test Statistic	.169
Exact Sig. (2-tailed)	.528
Point Probability	.000

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.

3.2.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_SA	Based on Mean	2.739	5	12	.071
	Based on Median	1.430	5	12	.283
	Based on Median and with adjusted df	1.430	5	5.852	.337
	Based on trimmed mean	2.646	5	12	.078

3.2.3 Uji ANOVA

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	834.625	7	119.232	5610.922	.000
Within Groups	.340	16	.021		
Total	834.965	23			

3.2.4 Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter

Tukey HSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference		Sig.	95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
K+	K-	18.10000*	.11902	.000	17.6879	18.5121
	1	17.76667*	.11902	.000	17.3546	18.1787
	2	17.80000*	.11902	.000	17.3879	18.2121
	3	17.73333*	.11902	.000	17.3213	18.1454
	4	18.01667*	.11902	.000	17.6046	18.4287
	5	17.85000*	.11902	.000	17.4379	18.2621
	6	17.50000*	.11902	.000	17.0879	17.9121
K-	K+	-18.10000*	.11902	.000	-18.5121	-17.6879
	1	-.33333	.11902	.163	-.7454	.0787
	2	-.30000	.11902	.254	-.7121	.1121
	3	-.36667	.11902	.100	-.7787	.0454
	4	-.08333	.11902	.996	-.4954	.3287
	5	-.25000	.11902	.454	-.6621	.1621
	6	-.60000*	.11902	.002	-1.0121	-.1879

1	K+	-17.76667*	.11902	.000	-18.1787	-17.3546
	K-	.33333	.11902	.163	-.0787	.7454
	2	.03333	.11902	1.000	-.3787	.4454
	3	-.03333	.11902	1.000	-.4454	.3787
	4	.25000	.11902	.454	-.1621	.6621
	5	.08333	.11902	.996	-.3287	.4954
	6	-.26667	.11902	.380	-.6787	.1454
2	K+	-17.80000*	.11902	.000	-18.2121	-17.3879
	K-	.30000	.11902	.254	-.1121	.7121
	1	-.03333	.11902	1.000	-.4454	.3787
	3	-.06667	.11902	.999	-.4787	.3454
	4	.21667	.11902	.617	-.1954	.6287
	5	.05000	.11902	1.000	-.3621	.4621
	6	-.30000	.11902	.254	-.7121	.1121
3	K+	-17.73333*	.11902	.000	-18.1454	-17.3213
	K-	.36667	.11902	.100	-.0454	.7787
	1	.03333	.11902	1.000	-.3787	.4454
	2	.06667	.11902	.999	-.3454	.4787
	4	.28333	.11902	.313	-.1287	.6954
	5	.11667	.11902	.971	-.2954	.5287
	6	-.23333	.11902	.534	-.6454	.1787
4	K+	-18.01667*	.11902	.000	-18.4287	-17.6046
	K-	.08333	.11902	.996	-.3287	.4954
	1	-.25000	.11902	.454	-.6621	.1621
	2	-.21667	.11902	.617	-.6287	.1954
	3	-.28333	.11902	.313	-.6954	.1287
	5	-.16667	.11902	.845	-.5787	.2454
	6	-.51667*	.11902	.009	-.9287	-.1046
5	K+	-17.85000*	.11902	.000	-18.2621	-17.4379
	K-	.25000	.11902	.454	-.1621	.6621
	1	-.08333	.11902	.996	-.4954	.3287
	2	-.05000	.11902	1.000	-.4621	.3621
	3	-.11667	.11902	.971	-.5287	.2954
	4	.16667	.11902	.845	-.2454	.5787
	6	-.35000	.11902	.128	-.7621	.0621
6	K+	-17.50000*	.11902	.000	-17.9121	-17.0879
	K-	.60000*	.11902	.002	.1879	1.0121

1	.26667	.11902	.380	-.1454	.6787
2	.30000	.11902	.254	-.1121	.7121
3	.23333	.11902	.534	-.1787	.6454
4	.51667*	.11902	.009	.1046	.9287
5	.35000	.11902	.128	-.0621	.7621

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4. Berkas Perizinan Laboratorium

Nomor : Malang, 12 Oktober 2021

Perihal : Perizinan Menggunakan Lab Mikrobiologi

Kepada Yth :
Ketua Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Di Malang

Sehubungan dengan penyelenggaraan penelitian kolaborasi Dosen dan Mahasiswa Program Studi Farmasi FKIK UIN Malang. Adapun konfigurasi tim penelitian kami adalah sebagai berikut:

Nama	NIM/NIP	Jabatan
Alif Firman Firdausy	199206072019031017	Peneliti Utama
Nofita Dhyah Ningrum	18930072	Anggota Peneliti
Afnan Adila	18930078	Anggota Peneliti
Azizah Nurul Rahmadhany	18930091	Anggota Peneliti
Kurnia Mufidah	18930102	Anggota Peneliti
Judul Penelitian: Metabolite Profiling Cell Free Supernatant Isolat Bakteri Asam Laktat dari Yoghurt di Kabupaten Malang		

Dengan ini kami mohon agar dapat diizinkan untuk menggunakan laboratorium sesuai dengan syarat dan ketentuan yang berlaku.

Demikian atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih

Ketua Peneliti/Pembimbing



(ALIF FIRMAN FIRDAUSY)