

**POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH  
*Weissella confusa* HASIL ISOLASI DARI SUSU KACANG  
TANAH TERFERMENTASI SEBAGAI ANTIBAKTERI  
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh :  
INTAN IRMAWATI RAMADHANI  
NIM. 17630058**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH  
*Weissella confusa* HASIL ISOLASI DARI SUSU KACANG  
TANAH TERFERMENTASI SEBAGAI ANTIBAKTERI  
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh :  
INTAN IRMAWATI RAMADHANI  
NIM. 17630058**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH  
*Weissella confusa* HASIL ISOLASI DARI SUSU KACANG  
TANAH TERFERMENTASI SEBAGAI ANTIBAKTERI  
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**INTAN IRMAWATI RAMADHANI  
NIM. 17630058**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 12 Juni 2023**

**Pembimbing I**



**Dr. Anik Ma'unatin, S. T., M. P  
NIDT. 19760105 20180201 2 248**

**Pembimbing II**



**Rif'atul Mahmudah, M. Si  
NIDT. 19830125 20160801 2 068**

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Wingsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010**

**POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH  
*Weissella confusa* HASIL ISOLASI DARI SUSU KACANG  
TANAH TERFERMENTASI SEBAGAI ANTIBAKTERI  
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
INTAN IRMAWATI RAMADHANI  
NIM. 17630058**

**Telah Dipertahankan Di depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)  
Tanggal : 12 Juni 2023**

**Penguji utama : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P  
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Ketua Penguji : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si  
NIP. 19831226 20180201 2 249**

**Sekretaris penguji : Dr. Anik Ma'unatin S.T., M.P  
NIDT. 19760105 2018201 2 248**

**Anggota Penguji : Rif'atul Mahmudah, M. Si  
NIDT. 19830125 20160801 2 068**

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Intan Irmawati Ramadhani  
NIM : 176300058  
Jurusan : KIMIA  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul penelitian :Potensi Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* Hasil Isolasi dari Susu Kacang Tanah Terfermentasi sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

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

Malang, 12 Juni 2023



Intan Irmawati Ramadhani  
NIM.17630058

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada orang tua saya bapak holil dan ibu kholifah serta papa sofian dan mama fatimah yang sudah selalu mendukung saya dalam hal mencari ilmu. Keluarga yang telah banyak membantu saya dalam semua hal dan menjadikan rumah penuh kehangatan. Terimakasih banyak kepada ibu kholifah yang selalu memberikan saya kepercayaan diri dalam menuntut ilmu dan mengambil keputusan sehingga saya dapat melalui semua tantangan. Terimakasih atas bantuan uang saku dan biaya kuliah kepada bapak holil dan papa sofian yang selalu memberikan dukungan materi sehingga saya bisa menyelesaikan kuliah dengan nyaman dan tanpa beban. Terima kasih untuk mama yang sudah jadi *wonder woman*. Terimakasih banyak atas kerja kerasnya kepada orangtua saya tercinta, semoga ilmu yang saya dapatkan bermanfaat didunia dan diakhirat.terimakasih kepada adik saya firda yang selalu jadi penyemangat saya agar cepat lulus kuliah dan segera bekerja. Terimakasih kepada keluarga yang selalu suportive dalam pendidikan.

Terima kasih kepada ibuk anik ma'unatin yang selalu membimbing saya dalam melaksanakan penelitian serta dalam penulisan naskah skripsi. Terima kasih atas kasih sayang yang telah diberikan bu anik kepada KURCACI sehingga KURCACI dapat selesai dengan baik dalam melaksanakan skripsi. Terimakasih sudah memberikan waktu dan ilmunya kepada saya dan teman - teman KURCACI. Semoga ilmu yang kita pelajari dari bu anik akan selalu bermanfaat didalam dunia sampai keakhirat.

Terima kasih kepada teman - teman KURCACI (ning jihan, kesayangan khoirumiah, bawang merah sisi, bawang putih zainul, gus rehan, anak pungut dema) seperjuangan yang telah banyak membantu saat melaksanakan penelitian. Kepada teman - teman KURCACI terima kasih atas kerja keras dan gotong royongnya dan semoga apapun yang terjadi di masa depan tali silaturahmi pertemanan kita akan tetap selalu terjaga.

## MOTTO

**“Dunia tempat perantauan itu hanya seluas setengah sayap nyamuk,  
jadi jangan sampai menjadi orang yang bodoh dan miskin saat pulang ke  
kampung halaman untuk bertemu kekasih محمد dengan jalur VIP”**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi penelitian ini yang berjudul **“Potensi Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* Hasil Isolasi dari Susu Kacang Tanah Terfermentasi sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*”** Sholawat serta salam senantiasa dipanjatkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan para umat serta pengikutnya. Penyusunan skripsi ini tidak luput dari dukungan, motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan kali ini penulis juga mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Ma'unatin S.T., M.P selaku Dosen Pembimbing utama yang telah membimbing saya dalam melaksanakan penelitian.
5. Ibu Rif'atul Mahmudah, M. Si., selaku Dosen Pembimbing agama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, serta masukan pada penulis.
6. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si selaku penguji dalam skripsi ini yang telah meberikan saran yang terbaik.
7. Terima kasih kepada para staf laboratorium jurusan kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah banyak membantu saya selama di laboratorium.
8. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.

Sebagai manusia dengan keterbatasan ilmu pengetahuan yang dikuasai, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna sehingga membutuhkan masukan dan kritikan yang bersifat membangun. Karena itu penulis membuka luas bagi yang ingin menyumbangkan masukan dan kritikan demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis sendiri maupun pembaca. Terimakasih

Malang, 12 Juni 2023

Intan Irmawati Ramadhani  
NIM.17630058

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vi
MOTTO .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
مستخلص البحث .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan .....	5
1.4 Batasan Masalah .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Bakteri Asam Laktat .....	6
2.2 <i>Weissella confusa</i> .....	8
2.3 Eksopolisakarida .....	9
2.3.1 Homopolisakarida.....	10
2.3.2 Heteropolisakarida.....	13
2.4 Biosintesis Eksopolisakarida .....	14
2.4.1 Biosintesis Homopolisakarida .....	14
2.4.2 Biosintesis Heteropolisakarida .....	16
2.5 Produksi Eksopolisakarida.....	17
2.6 Potensi Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri .....	21
2.7 Mekanisme Kerja Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri.....	22
2.8 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
2.9 Pengukuran Kadar Total Gula Menggunakan Metode Sulfat-Fenol .....	28
2.10 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida .....	29
2.11 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan FTIR .....	30
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>32</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	32
3.2 Alat dan Bahan.....	32

3.3 Rancangan Penelitian.....	33
3.4 Tahapan Penelitian.....	33
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	34
3.5.1 Pembuatan Media .....	34
3.5.1.1 Media <i>de Man Rogosa and Sharpe Agar</i> (MRSA) .....	34
3.5.1.2 Media <i>de Man Rogosa and Sharpe Broth</i> (MRSB) .....	35
3.5.1.3 Media Produksi Eksopolisakarida.....	35
3.5.1.4 Media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	36
3.5.1.5 Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA).....	36
3.5.1.6 Media <i>Mueller Hinton Broth</i> (MHB).....	36
3.5.2 Sterilisasi Alat dan Media.....	37
3.5.3 Regenerasi <i>Weissella confusa</i> .....	37
3.5.4 Pembuatan Inokulum <i>Weissella confusa</i> .....	37
3.5.5 Produksi Eksopolisakarida .....	38
3.5.6 Ekstraksi Eksopolisakarida.....	38
3.5.7 Uji Aktivitas Antibakteri .....	39
3.5.7.1 Regenerasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
3.5.7.2 Pembuatan Inokulum <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
3.5.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri EPS Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
3.5.8 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol .....	40
3.5.8.1 Pembuatan Kurva Standar .....	40
3.5.8.2 Penetapan Kadar Total Gula Eksopolisakarida .....	40
3.5.9 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.....	41
3.5.9.1 Pembuatan Kurva <i>Standar Bovine Serum Albumin</i> .....	41
3.5.9.2 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida.....	41
3.5.10 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida dengan FTIR.....	41
3.5.11 Analis Data .....	42

#### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....**Error! Bookmark not defined.

4.1 Produksi Eksopolisakarida.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1.1 Regenerasi Bakteri <i>Weissella confusa</i> <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.1.2 Pembuatan Inokulum <i>Weissella confusa</i> <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.1.3 Produksi dan Ekstraksi Eksopolisakarida <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.2 Uji Antibakteri Eksopolisakarida.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2.1 Regenerasi <i>Staphylococcus aureus</i> ... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.2.2 Pembuatan Inokulum <i>Staphylococcus aureus</i> <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Metode <i>Kirby bauer</i> <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.3 Analisa Kadar Gula Total Eksopolisakarida <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.4 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.5 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida dengan FTIR <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.6 Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri dalam Perspektif Islam <b>Error! Bookmark not defined.</b>	

#### **BAB V PENUTUP .....** 43

5.1 Kesimpulan .....	43
5.2.Saran .....	43

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Weissella confusa</i> .....	8
Gambar 2.2 Struktur Homopolisakarida .....	11
Gambar 2.3 Biosintesis HoPS .....	16
Gambar 2.4 Garis besar biosintesis HePS.....	17
Gambar 2.5 Interaksi antara EPS pada dinding sel Gram-positif .....	24
Gambar 2.6 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
Gambar 2.7 Reaksi pembentukan kompleks fenol-furfural .....	29
Gambar 2.8 Spektra FTIR EPS oleh <i>Weissella confusa</i> MD1 .....	31
Gambar 4.1 Hasil regenerasi bakteri <i>Weissella confusa</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.2 inokulum <i>Weissella confusa</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.3 Media Produksi Eksopolisakarida.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.4 Eksopolisakarida kering oleh <i>Weissella confusa</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.5 Hasil regenerasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.6 Inokulum <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.7 Antibakteri Eksopolisakarida terhadap <i>S.aureus</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.8 Spektra FTIR eksopolisakarida dari <i>Weissella confusa</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Homopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat.....	13
Tabel 4.1 Antibakteri Eksopolisakarida terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
Tabel 4.2 Gugus fungsi eksopolisakarida <i>Weissella confusa</i> .....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Rancangan Penelitian .....	68
Lampiran 2: Skema Kerja .....	69
Lampiran 3: Perhitungan.....	74
Lampiran 4. Hasil analisa SPSS.....	88
Lampiran 5. Hasil analisa FTIR .....	91
Lampiran 6. Dokumentasi.....	92

## ABSTRAK

Ramadhani, Intan Irmawati.2023. **Potensi Eksopolisakarida yang Dihasilkan oleh *Weissella confusa* Hasil Isolasi dari Susu Kacang Tanah Terfermentasi Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus***. Pembimbing I: Dr. Anik Ma'unatin, S.T., M.P. Pembimbing II: Rif'atul Mahmudah, M. Si

---

Kata Kunci : Eksopolisakarida, *Weissella confusa*, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

Eksopolisakarida (EPS) adalah polimer karbohidrat yang sudah disekresikan keluar sel oleh mikroorganisme penghasilnya yaitu bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri Gram-positif dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat yang berbagi karakteristik metabolisme dan fisiologis, tergolong *Generally Recognized as Safe* (GRAS). *Weissella confusa* adalah bagian dari genus bakteri asam laktat dan termasuk bakteri penghasil EPS. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antibakteri EPS terhadap *Staphylococcus aureus*.

Produksi EPS dilakukan menggunakan media semi sintetis dengan penambahan sumber gula sukrosa 12%. Konsentrasi EPS yang digunakan dalam uji antibakteri adalah 0,625 ; 1.25; 2,5; dan 5 mg/mL. Uji aktivitas antibakteri EPS menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu konsentrasi EPS untuk uji antibakteri. Analisis dalam penelitian ini adalah rendemen, aktivitas antibakteri, kadar gula total, kadar protein, analisis gugus dengan FTIR.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EPS yang diproduksi menghasilkan rendemen sebesar 15,713 gr/L. Zona hambat aktivitas uji antibakteri terbesar 3,7 mm pada konsentrasi 5 mg/mL Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA (sig <0.05) terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh konsentrasi EPS uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. EPS memiliki kadar gula total 88,60% dan kadar protein 0,348%. Hasil FTIR pada EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H, C=O, H-C-H dan C-O-C dan ikatan  $\alpha$ -glikosidik.

## ABSTRACT

Ramadhani, Intan Irmawati. 2023. **The potential of Exopolysaccharide Produced by *Weissella confusa* isolated from Peanut Milk Fermented As Antibacterial Against *Staphylococcus aureus*.** Advisor I: Dr. Anik Ma'unatin, S.T., M.P. Supervisor II: Rif'atul Mahmudah, M. Si

---

Keywords: Exopolysaccharide, *Weissella confusa*, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*.

Exopolysaccharide (EPS) is a carbohydrate polymer that has been secreted outside the cell by the producing microorganism, namely lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria are a group of Gram-positive bacteria with lactic acid as the main product of carbohydrate fermentation that shares metabolic and physiological characteristics, classified as Generally Recognized as Safe (GRAS). *Weissella confusa* is part of the genus lactic acid bacteria and includes EPS producing bacteria. The purpose of this study was to test the antibacterial activity of EPS against *Staphylococcus aureus*.

EPS production was carried out using semi-synthetic media with the addition of 12% sucrose. The EPS concentration used in the antibacterial test was 0.625 ; 1.25; 2.5; and 5 mg/mL. EPS antibacterial activity test using the Kirby-Bauer method. The treatment was repeated four times. Experiments in this study used a single factor Completely Randomized Design (CRD), namely EPS concentration for the antibacterial test. The analysis in this study was yield, antibacterial activity, total sugar content, protein content, and cluster analysis with FTIR.

The results of this study indicate that the produced EPS produces a yield of 15,713 gr/L. The largest inhibition zone for antibacterial activity was 3,7 mm at a concentration of 5 mg/mL. Based on the results of the One Way ANOVA test (sig <0.05), there was a significant difference in the effect of EPS concentration on *Staphylococcus aureus*. EPS has a total sugar content of 88,60% and a protein content of 0,348%. FTIR results on EPS produced by *Weissella confusa* showed the presence of O-H, C-H, C=O, H-C-H, and C-O-C functional groups and  $\alpha$ -glycosidic bonds.

## مستخلص البحث

رمضان، إتان إرمواتي. ٢٠٢٣. امكانية عديد السكاريد الخارجي التي أنتجتها العصيات (*Weissella confusa*) المعزولة عن مشروب الفول السوداني المخمرة كمضادة للجراثيم على المكورات العنقودية الذهبية. المشرف الأول: د. عنيق معونة، الماجستير. المشرف الثاني: رفعة محمود، الماجستير.

**الكلمات الرئيسية:** عديد السكاريد الخارجي، العصيات، مضادة للجراثيم، المكورات العنقودية الذهبية.

عديد السكاريد الخارجي (EPS) هو بوليمرات كربوهيدراتية تم إفرازها خارج الخلية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الناتجة، وهي بكتيريا حمض اللاكتيك. بكتيريا حمض اللاكتيك هي مجموعة من البكتيريا إيجابية الجرام مع حمض اللاكتيك كمنتج رئيسي لتخمير الكربوهيدرات التي تشترك في الخصائص الأيضية والفسولوجية، وتصنف على أنها معترف بها عموماً على أنها آمنة (*GRAS*). العصيات (*Weissella confusa*) هي جزء من جنس بكتيريا حمض اللاكتيك وينتمي إلى البكتيريا المنتجة ل EPS. كان الهدف من هذا البحث هو اختبار النشاط مضادة للجراثيم ل EPS على المكورات العنقودية الذهبية.

يتم إنتاج EPS باستخدام وسائط شبه اصطناعية مع إضافة مصدر سكر السكروز بنسبة ١٢%. كان تركيز EPS المستخدم في اختبار مضادة البكتيريا ٠.٦٢٥، ١.٢٥، ٢.٥، و ٥ ملغ / مل. اختبار نشاط مضادة الجراثيم باستخدام طريقة كيربي باور (*Kirby-Bauer*). تم تكرار المعالجة أربع مرات. استخدمت التجربة في هذه البحث تصميماً عشوائياً كاملاً (RAL) للعامل الواحد، وهو تركيز EPS لاختبار مضادة الجراثيم. التحليل في هذا البحث هو الغلة، نشاط مضادة الجراثيم، محتوى إجمالي السكر، محتوى البروتين، تحليل FTIR.

أظهرت نتائج هذا البحث أن EPS المنتج أنتج محصولاً قدره ١٥.٧١٣ جم / لتر. كانت أكبر منطقة تثبيط نشاط مضادة الجراثيم ٣.٧ مم بتركيز ٥ مجم / مل. بناء على نتائج اختبار (sig <0.05) One Way ANOVA كان هناك فرق كبير في تأثير اختبار نشاط مضادة الجراثيم بتركيز EPS على المكورات العنقودية الذهبية، والسكر الكلي ٨٨,٦٠%، محتوى البروتين ٠,٣٤٨%، تُظهر نتائج حديد لمجموع الوظيفي باستخدام FTIR O-H, C-H, C=O, H-C-H، رابطة الجليكوسيد عند.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar Belakang**

Eksopolisakarida (EPS) adalah polimer karbohidrat yang sudah disekresikan oleh mikroba ke luar sel, polimer tersebut merupakan salah satu polimer yang disintesis oleh bakteri asam laktat (Paulo, dkk., 2012). EPS menunjukkan spektrum aplikasi yang luas dalam industri farmasi dan biomedis. EPS memiliki kemampuan untuk meningkatkan kesehatan manusia karena aktivitas antioksidan dan antibakteri, antiulcer, imunomodulator dan spektrum aplikasi yang luas dalam makanan sebagai pengental alami sehingga meningkatkan tekstur, viskositas dan sifat rheologi produk. EPS memiliki kemampuan adhesi yang bisa digunakan untuk alternatif pengobatan infeksi pada dinding saluran pencernaan. Beberapa penelitian telah dilakukan pada EPS yang diproduksi oleh bakteri asam laktat beberapa dekade terakhir (Ruas, dkk., 2002).

Bakteri asam laktat (BAL) mampu menghasilkan EPS dengan cara disekresikan di luar dinding sel. BAL memiliki ciri - ciri bakteri sel berbentuk batang, Gram-positif, tidak membentuk spora, tahan asam, anaerob dan mikroaerofilik yang dicirikan oleh kemampuannya memfermentasi gula menjadi asam laktat. BAL termasuk bakteri *Generally Recognize as Safe Status* (GRAS) yang menghasilkan EPS sehingga aman dan dapat diaplikasikan secara luas. Beberapa BAL dapat menghasilkan EPS yang dapat berkontribusi pada

kesehatan manusia. *Weissella* adalah salah satu BAL paling penting yang bisa menghasilkan EPS (Surayot, dkk., 2014).

*Weissella confusa* adalah bagian dari genus bakteri asam laktat dan anggota mikrobiota asli manusia dan ternak yang termasuk bakteri penghasil EPS. *Weissella confusa* telah banyak digunakan sebagai penghasil EPS dan baru-baru ini menarik perhatian akademisi karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam produksi EPS (Surayot dkk., 2014). Wongsuphachat dkk., (2010) melaporkan EPS yang diproduksi oleh *Weissella confusa* NH02 dalam media MRSB menghasilkan EPS sebesar 18 g/L. EPS yang diproduksi *Weissella confusa* KR780676 pada media MRSB menghasilkan 17,2 g/L EPS (Kaviatake, dkk., 2016). Jin dkk., (2019) melaporkan EPS yang diproduksi *Weissella confusa* VP30 dalam media MRSB menghasilkan 59,9 g/L EPS. EPS yang dihasilkan oleh *Weissella confusa* XG-3 dalam media MRSB menghasilkan EPS sebesar 97,5 g/L (Zhao, dkk., 2020).

Menggali potensi antibakteri EPS dalam bidang pengobatan dan merupakan salah satu kewajiban manusia, karena Allah yang menurunkan sebuah penyakit di dunia maka Allah pula yang telah menurunkan obatnya kepada manusia. Allah berfirman, dalam surat An-Nahl Ayat 13:

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَكَّرُونَ

Artinya:” (Dia juga mengendalikan) apa yang Dia ciptakan untukmu di bumi ini dengan berbagai jenis dan macam warnanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.” (QS. An-Nahl : 13)

Berdasarkan kandungan surat An-Nahl Ayat 13 menurut tafsir Syaikh Abdurrahman bin Nashir as-Sa'di pada benda-benda yang Allah ciptakan bagi hambanya, berupa semua wujud yang berada di permukaan bumi, yang berbeda bentuk dan warnanya serta bervariasi kegunaannya terdapat bukti kesempurnaan kekuasaan Allah dan meratanya kebaikan dan luasnya kebajikan Allah, “Bagi kaum yang mengambil pelajaran” yaitu yang mempelajari hal hal yang bermanfaat bagi mereka, berupa ilmu yang berguna terhadap ciptaan Allah. Dengan itu, mereka memikirkan hal-hal yang menjadi bukti. Allah adalah Dzat yang sepatutnya kita melakukan ibadah, tiada sekutu baginya. Tafsir tersebut mengungkapkan bahwa Allah tidak pernah menciptakan hal yang sia-sia, termasuk makhluk mikroskopik yang tak kasat mata seperti BAL. Seperti yang sudah diketahui bahwa BAL yang dapat memproduksi EPS memiliki banyak manfaat untuk pengembangan pangan dan teknologi kesehatan salah satunya sebagai antibakteri.

Mekanisme EPS dalam menghambat bakteri patogen dengan cara menggunakan interaksi antara EPS dengan dinding sel bakteri. Permukaan sel bakteri merupakan elemen vital dalam komunikasi sel ke sel dan sel ke inang. EPS mampu menghambat bakteri patogen dikarenakan gugus hidroksil yang terdapat pada EPS akan memasuki dinding sel bakteri patogen yang bisa mengganggu permeabilitas pada permukaan sel bakteri patogen. Kemudian terjadi hidrolisis yang berakibat kebocoran sel yang membuat sel mati (Aullybux, dkk., 2019).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri dari Gram-positif yang dapat menimbulkan berbagai penyakit pada manusia dan hewan.

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri flora normal yang terdapat pada mulut dan saluran pernafasan. *Staphylococcus aureus* dalam kondisi tidak normal memiliki potensi patogen yang dapat menyebabkan berbagai macam infeksi pada manusia dan hewan. *Staphylococcus aureus* dapat mempengaruhi semua jenis jaringan dan menghasilkan berbagai gangguan yang dimediasi toksin, menyebabkan spektrum sindrom klinis yang luas dari infeksi kulit ringan hingga sepsis yang luar biasa (Hiramatsu, 2004).

Jaroszuk dkk., (2014) melaporkan konsentrasi EPS 1 mg/mL yang diproduksi oleh *Ganoderma applanatum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat 17,9 mm. Ghalem (2017) dan Benattouche, dkk., (2018) konsentrasi EPS 1 mg/mL yang diproduksi oleh BAL yang berasal dari starter yoghurt menjadi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat masing – masing 10 mm dan 8,6 mm.

EPS yang dihasilkan oleh berbagai BAL menunjukkan adanya aktivitas sebagai antibakteri. Karena itu penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi EPS yang dihasilkan dari *Weissella confusa* sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana aktivitas antibakteri eksopolisakarida yang dihasilkan *Weissella confusa* terhadap *Staphylococcus aureus*.

### **1.3 Tujuan**

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri eksopolisakarida yang dihasilkan *Weissella confusa* terhadap *Staphylococcus aureus*.

### **1.4 Batasan Masalah**

1. *Weissella confusa* penghasil EPS merupakan hasil isolasi susu kacang tanah terfermentasi.
2. Menggunakan media produksi semi sintetis dengan penambahan sukrosa 12%.
3. EPS yang digunakan dalam uji antibakteri adalah 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL dengan kontrol positif khloramphenicol.
4. Uji antibakteri menggunakan metode *Kirby-Bauer*.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai produksi EPS dari *Weissella confusa* dengan penambahan sukrosa 12% pada media alternatif semi sintetis.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemampuan EPS dari *Weissella confusa* sebagai antibakteri.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bakteri Asam Laktat**

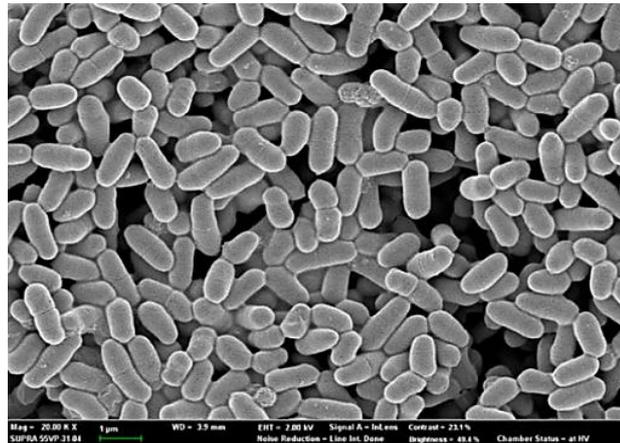
Istilah bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram-positif dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Metabolisme glikolisis pada kondisi anaerob dengan gula sebagai sumber utamanya. Ciri-ciri umum BAL biasanya katalase-negatif, membentuk non-spora, non-mobile, anaerob fakultatif, fermentatif, dan memiliki bentuk batang (*basil*) atau bulat (*coccus*) (Guérin, dkk., 2020). BAL bisa tumbuh pada pH lingkungan yang rendah dan dapat diisolasi dari buah-buahan, sayuran, daging, dan produk susu. BAL dianggap sebagai *food grade microorganism* yang tidak beracun karena memiliki *Generally Recognize as Safe Status* (GRAS) sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan yang luas (Sun, dkk., 2014).

BAL banyak digunakan dalam berbagai aplikasi industri termasuk kultur starter dalam industri makanan dan medis sebagai antibakteri karena dapat mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan dan bakteriosin. BAL yang bersifat probiotik yang telah diketahui dapat memproduksi eksopolisakarida yang bersifat antibakteri terhadap bakteri patogen. BAL merupakan bakteri mesofilik dengan beberapa jenis strain memiliki sifat termofilik yang mampu tumbuh pada rentang suhu 5 - 45°C serta mampu tumbuh pada pH 3 - 8. BAL diklasifikasikan menjadi homofermentatif obligat dan heterofermentatif obligat (Rachmawati, dkk., 2005).

BAL homofermentatif mengkatabolisme hanya molekul glukosa mengubah glukosa menjadi asam laktat. BAL heterofermentatif mengubah glukosa menghasilkan produk akhir menjadi asam laktat, asam asetat, karbon dioksida, dan etanol. Dalam mekanisme pembentukan asam laktat, keduanya memiliki kesamaan yakni piruvat kemudian diubah menjadi asam laktat dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD<sup>+</sup>. Selain itu, BAL menghasilkan zat penting selama fermentasi seperti senyawa aroma (aseton dan diacetyl), eksopolisakarida (EPS) (Guérin, dkk., 2020). EPS yang dihasilkan oleh BAL berfungsi pelindung sel bakteri dari sel lain yang bersifat bakteriofag pada kondisi lingkungan yang ekstrim atau tidak menguntungkan sebagai bentuk pertahanan diri. Beberapa BAL dapat menghasilkan EPS *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, dan *Weissella* (De Vuyst dan De Geest, 1999).

*Media de Man Rogosa and Sharpe agar* (MRSA) dan *de Man Rogosa and Sharpe broth* (MRSB) yaitu media yang dirancang khusus untuk mendukung pertumbuhan mikroba kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang mempunyai nutrisi sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan BAL serta dapat memberikan hasil yang baik dalam perhitungan koloni serta morfologi bakteri (Man., 1960). Kandungan dalam MRSB berupa glukosa, *beef extract*, *yeast extract*, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, natrium asetat anhidrat, ammonium sitrat, tripton, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, *Tween 80* (Du dkk., 2017). MRSA memiliki kandungan agar yang menyebabkan fasa padat ketika media dingin. Jika tujuan adalah untuk menumbuhkan BAL maka digunakan media MRSA namun jika tujuan adalah untuk menumbuhkan dan memudahkan BAL melepaskan metabolit sekundernya maka digunakan media MRSB (Man, 1960).

## 2.2 *Weissella confusa*



**Gambar 2.1** *Weissella confusa* (Jin, dkk., 2019)

Berdasarkan taxonomiknya, *Weissella confusa* diklasifikasikan sebagai berikut:

*Kingdom* : Bacteria

*Divisi* : Firmicutes

*Class* : Bacilli

*Ordo* : Lactobacillales

*Famili* : Leuconostoc Ceae

*Genus* : Weissella

*Spesies* : *Weissella confusa*

*Weissella spp.* adalah bakteri non-spora, homofermentatif, anaerob fakultatif, Gram positif, katalase negatif,  $\alpha$ -hemolitik yang muncul sebagai batang pendek atau *coccobacilli* berpasangan dan berantai (Jin, dkk., 2019). *Weissella confusa* adalah bagian dari genus bakteri asam laktat dan anggota mikrobiota asli manusia dan ternak. *Weissella (Weissella Confusa)* telah ditemukan di berbagai lingkungan, tanaman, dan berbagai makanan. *Weissella spp.* memiliki represi katabolit yang mengatur jalur transportasi gula, metabolisme sintesis enzim dan prekursor nukleotida gula. Hasil tersebut menunjukkan jika sukrosa merupakan karbon utama sumber produksi EPS (Sturino, 2018).

Beberapa *Weissella spp.* digunakan untuk memproduksi EPS, yang dapat digunakan sebagai prebiotik atau aplikasi lain. Beberapa tahun terakhir, strain *Weissella spp.* telah menarik perhatian karena mempunyai kemampuan tinggi dalam memproduksi EPS. Spesies *Weissella* telah memiliki kapasitas produksi EPS yang lebih tinggi dari strain BAL yang lain (Jin, dkk., 2019). *Weissella Confusa*, dapat tumbuh pada suhu 35 - 45°C. *Weissella* yang diisolasi dari gandum telah dilaporkan menghasilkan EPS jenis *dextran*. *Weissella* diketahui dapat menghasilkan hidrogen peroksida yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Kang, dkk., 2011)

### **2.3 Eksopolisakarida**

Eksopolisakarida (EPS) adalah polimer karbohidrat yang sudah disekresikan oleh mikroba ke luar sel, polimer tersebut merupakan salah satu polimer yang disintesis oleh bakteri asam laktat (BAL) (Paulo, dkk., 2012). Penyusun utama unit gula EPS terutama glukosa, galaktosa dan rhamnosa, dalam rasio yang berbeda. EPS disekresikan keluar dinding sel oleh bakteri saat mengalami kondisi yang tidak menguntungkan. EPS terdiri dari monosakarida dan substituen non-karbohidrat seperti piruvat, asetat, fosfat, dan suksinat selain itu juga dapat memproduksi biomolekul seperti protein, lipid, asam nukleat (Dilna, dkk., 2015). EPS memiliki peran dalam melindungi sel bakteri penghasilnya dari kekeringan, kemampuan membentuk gel dan degradasi polutan, berfungsi mempertahankan aktivitas antibakteri dan fungsi seluler primer terhadap patogen (Surayot, dkk., 2014).

Pemanfaatan EPS secara luas pada bidang pangan, farmasi, kesehatan dan industri lainnya telah memberikan berbagai sumbangan positif pada masing-masing bidang. EPS diaplikasikan sebagai pengental, pembentuk gel, pembentuk emulsi, pengental, pembentuk tekstur di berbagai industri pangan. EPS mampu mengikat air selama penyimpanan sehingga mempertahankan tekstur tetap lembut pada produk gel (Malik dkk., 2008). Di bidang farmasi atau pengobatan, EPS dilaporkan memiliki berbagai manfaat sebagai anti inflamasi, anti tumor, anti infeksi dan sebagai imunomodulator. Manfaat ini didasarkan pada kemampuan EPS untuk menempel dan berkolonisasi di permukaan usus sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Halim dkk., 2013).

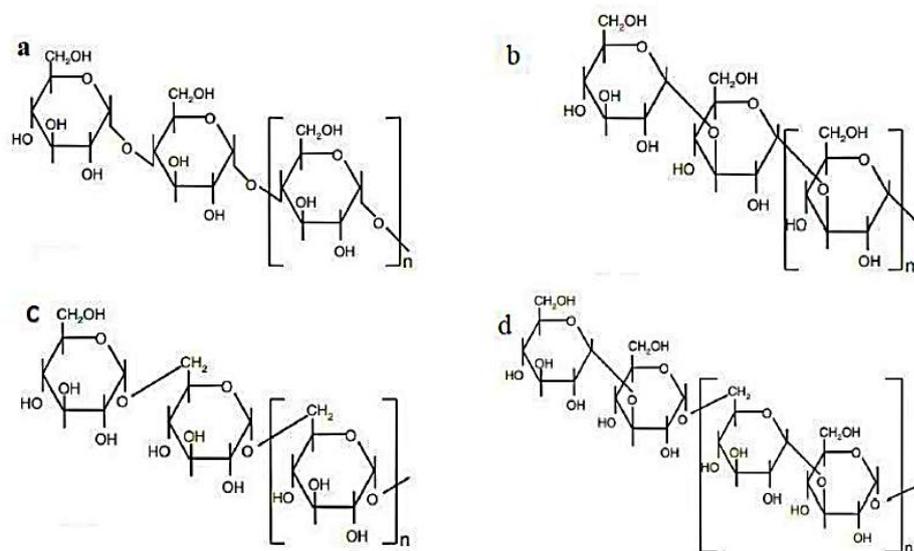
Karakteristik EPS sangat bervariasi dalam struktur dan massa molekul, ukuran molekul, muatan, dan sifat reologinya. EPS dari BAL dapat diklasifikasikan dari mekanisme biosintesisnya dan komponen penyusunnya. Salah satu kriteria klasifikasi yang paling banyak digunakan adalah berdasarkan komposisi monomernya (Paulo dkk., 2012). Pada dasarnya, bergantung di komposisi unit berulang dan jalur biosintesis, EPS dapat diklasifikasikan menjadi dua bagian. Bagian-bagian tersebut adalah homopolisakarida (HoPS) atau heteropolisakarida (HePS). HoPS terdiri dari satu jenis monosakarida dan disintesis dalam media ekstraseluler, sedangkan HePS terdiri dari beberapa monosakarida yang disintesis dalam media intraseluler (Kristo, dkk., 2011).

### **2.3.1 Homopolisakarida**

Homopolisakarida (HoPS) terdiri dari satu monosakarida, glukosa atau fruktosa dengan eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan masing-masing glukon

atau fruktan. HoPS bisa diklasifikasikan menurut jenis monosakarida yang menyusun strukturnya (Surayot, dkk., 2014). Glukan mempunyai ikatan  $\alpha$  seperti dekstran terdiri hanya dari glukosa. Glukan terdiri dari residu glukosa sebagai struktur tulang punggung utama dengan berbagai tingkat percabangan dan situs pengikatan yang bervariasi dari strain bakteri ke strain bakteri. Glukan dapat diklasifikasikan sebagai  $\alpha$ -glukan atau  $\beta$ -glukan. HoPS jenis fruktan mengandung fragmen fruktosil dengan ikatan  $\beta$ -(2,6) atau  $\beta$ -(2,1). Polisakarida *inulin* dan *levan* yang dihasilkan fruktan terdiri dari fruktosa. *Weissella* umumnya termasuk BAL yang diketahui dapat memproduksi HoPS (Jurášková, dkk., 2022).

Faktanya, HoPS disintesis oleh glykansucrases ekstraseluler. HoPS disintesis dari sukrosa dibantu oleh enzim glikosiltransferase. Glukosiltransferase (GTF) dan fruktosiltransferase (FTF) adalah enzim yang terlibat dalam biosintesis glukan dan fruktan (Harutoshi, 2003). HoPS yang diproduksi oleh BAL tersedia pada Tabel 2.1 (Jurášková, dkk., 2022) :



**Gambar 2.2** Struktur Homopolisakarida Glukan  
 a. Reuran, b. Mutan, c. Dekstran, d. Alternan (Daba dkk., 2021)

a. *Dextran*

*Dextran* terdiri dari unit rantai utama glukosil yang berulang sebagian besar memiliki ikatan  $\alpha$ -(1,6), meskipun beberapa rantai cabang dapat terjadi pada  $\alpha$  (1,2),  $\alpha$ -(1,3) atau  $\alpha$ -(1,4). HoPS jenis ini dicirikan oleh kemampuannya untuk berkontribusi pada adhesi mikroba (Jurášková dkk., 2022). *Dextran* merupakan salah satu contoh HoPS yang diproduksi skala industri dan bisa dimanfaatkan pada industri bahan pangan atau non-pangan. Karena memiliki aplikasi sebagai pengganti plasma, dengan cara mengembangkan volume plasma darah dalam tubuh sehingga kapasitas oksigen yang dapat dibawa oleh darah meningkat. Ikatan  $\alpha$ -(1,6) glikosidik membuat *dextran* terhidrolisis secara perlahan dalam tubuh oleh enzim  $\alpha$ -amilase. Karena hal ini membuat *dextran* memiliki kelarutan air tinggi dan stabilitas biologis tinggi serta antigenesitas rendah dalam darah. *Dextran* bisa digunakan sebagai perawatan yang melibatkan suplai zat besi selama anemia, karena diserap secara baik didalam tubuh (Jurášková dkk., 2022).

b. *Mutan*

*Mutan* umumnya tidak larut dalam air dan *mutan* terhubung oleh ikatan glikosidik  $\alpha$ -(1,3) dengan percabangan di  $\alpha$ -(1,6). *Mutan* memiliki kemampuan kuat dalam menempel di mukosa usus.

c. *Reuteran*

*Reuteran* adalah  $\alpha$ -glucan bercabang yang larut dalam air, dihubungkan oleh ikatan glikosidik  $\alpha$ -(1,4)-fragmen linier yang dihubungkan oleh  $\alpha$ -(1,6) obligasi.

d. *Alternan*

*Alternan* dihubungkan secara bergantian oleh  $\alpha$ -(1,6) dan  $\alpha$ -(1,3) dan memiliki viskositas yang lebih rendah dan kelarutan yang lebih tinggi dalam air.

**Tabel 2.1** Homopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Jurášková dkk., 2022)

HoPS		BAL	Mw/Structure
<i><math>\alpha</math>-D-glucans</i>	<i>Dextran</i>	<i>Weissella confusa</i> <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Lactobacillus mali</i>	Mw: 103–107 Da $\alpha$ -D-Glc(1,6)
<i>Fructans</i>	<i>Levans</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptococcus mutans</i>	Mw: 104–108 Da $\beta$ -D-Fru(2,6)
<i>Polygalactan</i>		<i>Lactococcus lactis</i>	<i>pentameric repeating unit of galactose</i>
<i><math>\beta</math>-Glucans</i>		<i>Pediococcus parvulus</i>	Mw: 105–106 Da [ $\beta$ -D-Glc(1,3) <i>with side chain linked (1,2)</i> ]

### 2.3.2 Heteropolisakarida

Mayoritas eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) adalah heteropolisakarida (HePS). HePS biasanya terdiri dari 2 sampai 8 monosakarida dengan derajat polimerisasi yang berbeda-beda. Unit penyusun HePS diantaranya adalah glukosa, rhamnosa, mannosa, fruktosa dan galaktosa. Kadang-kadang substituen non- karbohidrat seperti fosfat, asetil dan gliserol hadir dalam HePS. Struktur HePS bisa linier atau bercabang, ditentukan oleh jumlah dan jenis monosakarida serta jenis ikatannya. *Gellan*, *xanthan* dan *kefiran* adalah beberapa contoh HePS. Komposisi subunit monosakarida dan struktur unit berulang menunjukkan kemiripan struktur yang sangat kecil. Massa molekul ini polymer HePS berkisar antara  $1.0 \times 10^4$  dan  $6,0 \times 10^6$  Da. Bakteri penghasil heteropolisakarida antara lain adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Bifidobacterium* (Jurášková dkk., 2022).

## 2.4 Biosintesis Eksopolisakarida

EPS dapat disintesis dari bakteri Gram-positif dan Gram-negatif melalui mekanisme yang berbeda. EPS yang diproduksi dari bakteri Gram-positif, seperti *levan*, *alternan* dan *dextran* disintesis secara ekstraseluler. Bakteri Gram-negatif seperti gelam, selulosa, suksinoglikan akan disintesis secara intraseluler. Pada dasarnya, biosintesis EPS dapat dikategorikan menjadi tiga langkah utama: Pertama, substrat karbon diasimilasi. Kedua, polisakarida disintesis di lokasi intraseluler dan akhirnya dikeluarkan dari sel. HoPS disintesis oleh hanya satu enzim yang dikodekan oleh satu gen. Sebaliknya, urutan genetik dari HePS mengkodekan beberapa glikosiltransferase, polimerisasi protein, dan pengatur protein. Pada sudut pandang biokimia, ada dua kelompok utama enzim terlibat dalam produksi EPS (Jurášková dkk., 2022).

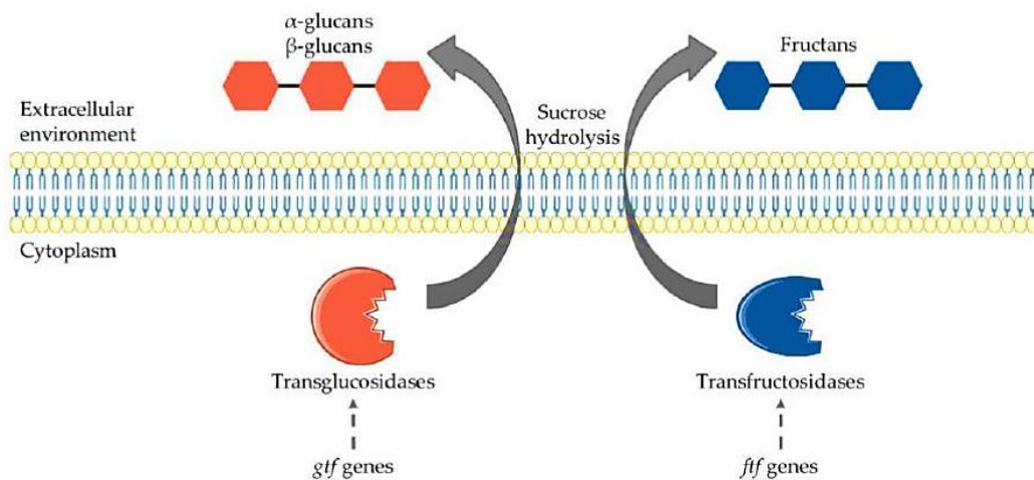
Kelompok pertama terdiri dari enzim yang diperlukan untuk sintesis nukleotida gula dasar yang digunakan oleh jalur metabolisme seluler lainnya. Kelompok kedua terdiri dari enzim spesifik EPS, seperti *glycosyl* dan *asetil transferase* atau enzim yang bertanggung jawab untuk polimerisasi dan ekspor, yang mengatur seluruh proses. Enzim spesifik EPS diatur oleh gen yang biasanya diatur dalam *cluster* pada kromosom atau plasmid (Jurášková dkk., 2022).

### 2.4.1 Biosintesis Homopolisakarida

Biosintesis homopolisakarida (HoPS) relatif sederhana karena tidak ada langkah transpor aktif dan tidak ada energi yang tidak perlu dikonsumsi kecuali untuk biosintesis enzim ekstraseluler. Biosintesis HoPS terjadi pada *Weissella*,

*Leuconostoc*, *Lactobacillus* dan *Pediococcus* (Gänzle., 2015). Sintesis pada HoPS dibantu oleh enzim ekstraseluler yaitu glukansukrase atau fruktansukrase. Kedua enzim tersebut mentransfer monosakarida dari substrat spesifik sehingga terbentuk rantai polisakarida dengan cara menghidrolisis monosakarida yang selanjutnya akan melekat pada rantai akseptor glikan. Glukansukrase dikendalikan oleh enzim glikosiltransferase (gtf) sedangkan fruktansukrase dikendalikan oleh enzim fruktosiltransferase (ftf) seperti terlihat pada Gambar 2.3. Glukansukrase yang berperan dalam sintesis glukana dan fruktansukrase yang berperan dalam sintesis fruktan sebagai penghidrolisis ikatan glikosida (Ruas, dkk., 2002).

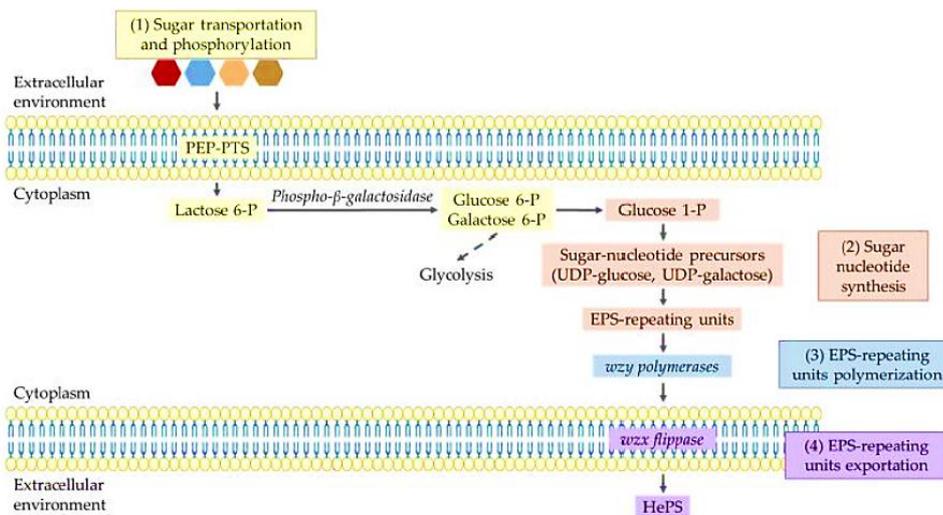
Sukrosa dipecah menjadi monomer glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim. Enzim tersebut mentransfer monosakarida dari substrat spesifik pada pertumbuhan rantai polisakarida, residu monosakarida yang dihasilkan akan melekat pada rantai akseptor glikan (Gänzle., 2015) yang memutuskan ikatan glikosidik substratnya (sukrosa) dan unit fruktosil untuk mensintesis baik  $\alpha$ -glukan atau  $\beta$ -fruktan. Energi yang dilepaskan oleh pemutusan ikatan glikosidik energik digunakan untuk mentransfer unit monosakarida ke ujung pereduksi polimer. Energi yang dibutuhkan untuk reaksi glukansukrase diperoleh dari pemutusan ikatan osidik dalam sukrosa. Oleh karena itu HoPS dapat diproduksi dalam jumlah besar dibandingkan dengan biosintesis HePS yang memakan energi (Ruas dkk., 2002).



**Gambar 2.3** Biosintesis HoPS (Guerin dkk., 2020)

#### 2.4.2 Biosintesis Heteropolisakarida

Proses biosintesis heteropolisakarida (HePS) lebih luas dan memakan energi. Biosintesis HePS melalui pengubahan fruktosa 6-P menjadi mannosa 6-P dengan bantuan katalis enzim MannA (mannosa 6-fosfat isomerase). Kemudian mannosa 6-P menjadi mannosa 1-P dikatalisis oleh enzim MannB (fosfomannomutase). Selanjutnya mannosa 1-P diubah menjadi GDP-mannosa dengan bantuan enzim Gtp (mannosa 1-fosfat guaniltransferase), GDP-mannosa kemudian menjadi GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa dikatalisis oleh enzim Gmd (GDP-mannosa-4,6-dehidratase). GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa berubah menjadi GDP fukosa dibantu dengan enzim GDP-fukosa sintase, kemudian nukleotida gula berupa GTF (glikosiltransferase) berperan untuk menggabungkan monosakarida-monosakarida yang melakukan pengulangan unit hingga membentuk HePs. (Jurášková dkk., 2022).



**Gambar 2.4** Garis besar biosintesis HePS (Guerin dkk., 2020).

Nukleotida gula memainkan peran penting dalam biosintesis HePS. Pentingnya nukleotida gula ini, yang diturunkan dari gula-1-fosfat adalah; 1) peran mereka dalam aktivasi gula (Aktivasi gula diperlukan untuk polimerisasi monosakarida. 2) interkonversi gula (epimerisasi, dekarboksilasi, dehidrogenasi, dan sebagainya). Bersama dengan aktivasi gula dan enzim modifikasi memainkan peran penting dalam pembentukan blok bangunan dan komposisi EPS akhir (De Vuyst dan De Geest, 1999).

## 2.5 Produksi Eksopolisakarida

Produksi eksopolisakarida (EPS) umumnya dilakukan menggunakan menumbuhkan bakteri asam laktat (BAL) di media MRS padat yang dilengkapi oleh gula sejenis sukrosa, maltosa, fruktosa, glukosa, atau laktosa. Produksi EPS juga bisa dilakukan di media cair yang dilengkapi dengan banyak sumber seperti nitrogen, karbon, serta vitamin. Komposisi media, strain BAL dan kondisi pertumbuhan merupakan faktor penting untuk total hasil EPS yang

dihasilkan dari laboratorium. Optimalisasi lingkungan pertumbuhan adalah titik kritis, untuk produksi EPS maksimal dengan strain BAL tercapai. Media kompleks biasanya menghasilkan hasil EPS yang lebih tinggi. Secara umum koloni yang didapatkan pada homopolisakarida (HoPS) mempunyai penampilan yang kental sedangkan heteropolisakarida (HePS) mempunyai penampilan mengkilap (Guerin, dkk., 2020).

Produksi EPS dilakukan melalui proses fermentasi, lama fermentasi adalah parameter yang sangat berpengaruh pada massa molekul, jenis gula penyusun, dan komposisi gula pada EPS. Afriani (2010), fermentasi merupakan suatu kegiatan mikroorganisme baik aerob maupun anaerob untuk mendapatkan energi diikuti terjadinya perubahan kimiawi substrat organik, baik karbohidrat, protein, lemak dan lainnya melalui biokatalis dan dikenal menjadi enzim yang didapatkan oleh jenis mikroorganisme spesifik. Produksi EPS meningkat selama fase eksponensial dan tidak ada produksi lebih lanjut yang diamati pada fase pertumbuhan stasioner. Tingkat produksi tertinggi yang dilaporkan sejauh ini diperoleh untuk jalur mesofilik salah satunya spesies *Weissella* di antara strain BAL sering menghasilkan EPS (Malang dkk., 2015).

Berikut adalah faktor yang mempengaruhi produksi EPS:

1. Media

Bakteri umumnya memperoleh energi berasal dari oksidasi kimia. Kebanyakan bakteri mendapatkan nutrisi yang dibutuhkan sel untuk mensintesis protoplasma yang berasal aneka macam sumber nutrisi seperti sumber karbon, sumber nitrogen, ion-ion anorganik eksklusif, metabolit krusial serta air (Volk dan Wheeler, 1988). Pemilihan jenis media bisa mempengaruhi produksi EPS

karena rantai utama dari polimer ini merupakan gula reduksi. Penelitian ini menggunakan media produksi alternatif selain media MRS untuk memproduksi Eksopolisakarida (EPS) menggunakan media campuran semi sintetis. Media semi sintetis dipilih karena dapat menekan biaya produksi menjadi lebih murah dibandingkan media *de Man Rogosa and Sharpe broth* (MRSB). Nutrisi yang terdapat pada media semi sintetis juga tidak lebih lengkap dibandingkan media MRSB, sehingga bisa memberikan cekaman pada bakteri asam laktat (BAL). Penelitian Abid dkk., (2018) melaporkan bahwa BAL dapat menghasilkan EPS karena kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan sebagai bentuk pertahanan dari suasana lingkungan yang kurang akan nutrisi sehingga dapat menyebabkan produksi EPS yang berfungsi untuk melindungi sel bakteri. Komposisi media produksi yang digunakan mengikuti penelitian Dharmik dan Narkhede (2020) yang memiliki komposisi pepton, ekstrak ragi,  $K_2HPO_4$ ,  $CaCl_2$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , dan NaCl media ini dipilih karena memiliki sumber karbon yang digunakan untuk memproduksi EPS berupa sukrosa. Wongsuphachat, dkk., (2010) pada melaporkan EPS diproduksi oleh *Weissella confusa* memakai media MRSB ditambahkan sukrosa 2% dapat menghasilkan EPS 18,08 gr/L. Jin, dkk., (2019) memproduksi EPS oleh *Weissella confusa* pada media MRSB menggunakan penambahan sukrosa 10% membentuk menghasilkan EPS 59,99 gr/L.

## 2. Konsentrasi Inokulum

Inokulum merupakan biakan bakteri yang dimasukkan ke pada media cair yang siap dipergunakan untuk fermentasi. Kadar inokulum pada fermentasi memberikan dampak terhadap produk fermentasi, akibat biosintesis EPS

menggunakan variasi inokulum 1, 2,5, 5,0, 10, 15, serta 20 ml/L dengan hasil terbaik pada konsentrasi inokulum 10 ml/L bisa membentuk eksopolisakarida sebanyak 650 mg/L (Haroun, dkk. 2013).

### 3. Konsentrasi Substrat

Kecepatan reaksi enzimatik pada biasanya bergantung di konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan semakin tinggi seiring menggunakan naiknya konsentrasi substrat. Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil sampai tercapai suatu titik batas yang di akhirnya. Hal ini terjadi sebab molekul enzim sudah membentuk kompleks dengan substrat yang selanjutnya kenaikan konsentrasi substrat tidak berpengaruh terhadap kecepatan reaksinya (Lehniger, 1997).

### 4. pH

pH adalah salah satu parameter yang krusial serta kritis lingkungan yang mempengaruhi total bakteri asam laktat pada medium fermentasi, total asam laktat serta total EPS kasar yang didapatkan. Jin dkk., (2019) bahwa produksi EPS optimum berasal isolat *Weissella confusa* adalah di kurang lebih pH 7 dengan hasil EPS sebanyak 59 gr/L.

### 5. Suhu

Suhu fermentasi yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba serta enzim yang didapatkan oleh mikroba itu sendiri. Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan denaturasi enzim. Enzim bekerja sangat lambat pada suhu dibawah titik beku serta kereaktifannya akan semakin tinggi hingga suhu 45°C. Bakteri asam laktat menghasilkan EPS optimal pada suhu 30-37°C (Lehniger, 1997).

## 2.6 Potensi Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa eksopolisakarida (EPS) bisa dipakai untuk agen terapeutik yang mana bisa menangkal radikal bebas digunakan pencegahan kerusakan oksidatif. Suatu zat dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri apabila memiliki kemampuan penghambatan terhadap bakteri tertentu dalam pemberian konsentrasi rendah. EPS juga bisa berperan menjadi antibakteri menggunakan fungsi yang hampir sama dengan obat antibakteri buatan tetapi mempunyai pengaruh samping yang minimal (Dahuni dkk., 2018).

Yu dkk., (2018) melaporkan EPS dari *Weissella cibaria* 27 dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* dengan zona hambat masing-masing 7 mm dan 12,3 mm. Ghalem (2017) EPS yang diproduksi oleh BAL yang berasal dari starter yoghurt menjadi antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus D*, *C.albicans* dan *Proteus.sp* dengan zona hambat yang berurutan 13 mm, 10 mm, 9 mm, 12 mm. EPS dari *Lactobacillus kefiranofaciens* memberikan efek bakteristatik dan bakterisida terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella enteritidis* dengan penghambatan yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi EPS (Zhou, dkk., 2018).

EPS yang diproduksi oleh *Lactobacillus johnsonii* FI9785 dapat membantu probiotik untuk menjajah permukaan saluran pencernaan karena hidrofilik permukaan dan pengurangan agregasi otomatis. Menunjukkan bahwa EPS dapat menghambat pertumbuhan patogen dengan meningkatkan penghambatan kompetitif bakteri patogen diinang (Fanning dkk., 2012). Efek komensal antara

probiotik dapat dimediasi oleh EPS dari *Bacillus subtilis* dan dengan demikian dilindungi dari respons imunologis yang kuat di dalam inang. Secara meyakinkan, EPS yang diproduksi dari BAL menunjukkan efek antibakteri yang luar biasa terhadap patogen Gram-positif dan Gram-negatif (Abdalla dkk., 2021). EPS hasil produksi dari BAL dapat menempel pada mukosa usus halus sehingga meningkatkan kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen. EPS berkontribusi pada kesehatan manusia karena memiliki aktivitas anti tumor, antiulcer, anti-inflamasi, anti-infeksi, dan meningkatkan sistem imun tubuh. Disamping itu EPS bermanfaat sebagai penstabil dan pengental alami pada produk yogurt (Halim dan Zubaidah., 2013).

Media *Mueller Hinton Broth* (MHB) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA) merupakan media sumber nutrisi yang dibutuhkan bakteri selama proses uji antibakteri dan pembuatan inokulum bakteri patogen. MHA dan MHB digunakan sebagai media untuk uji antibakteri karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur kebanyakan bakteri. Selain itu MHA dan MHB juga bersifat netral, sehingga tidak menimbulkan pengaruh terhadap prosedur uji antibakteri. MHA dan MHB memiliki kandungan *beef extract*, *casein hydrolysate*, *starch* sebagai sumber nutrisi untuk bakteri. Bedanya MHA mengandung agar yang digunakan sebagai bahan pemat media setelah dingin yang tidak memiliki nutrisi untuk bakteri (Utomo dkk., 2018).

## **2.7 Mekanisme Kerja Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri**

Mekanisme eksopolisakarida (EPS) dalam menghambat bakteri patogen dengan cara menggunakan interaksi antara EPS dengan dinding sel bakteri.

Permukaan sel bakteri merupakan elemen vital dalam komunikasi sel ke sel dan sel ke inang. EPS telah terbukti memiliki peran penting dalam memodulasi beberapa fitur interaksi antara *bifidobacteria* dan inangnya, seperti mengurangi respons imunologis terhadap bakteri (Fanning dkk., 2012). Sifat antibakteri dibagi menjadi dua yaitu, bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri patogen) dan bakterisidal (membunuh bakteri patogen) (Awaliah, 2020).

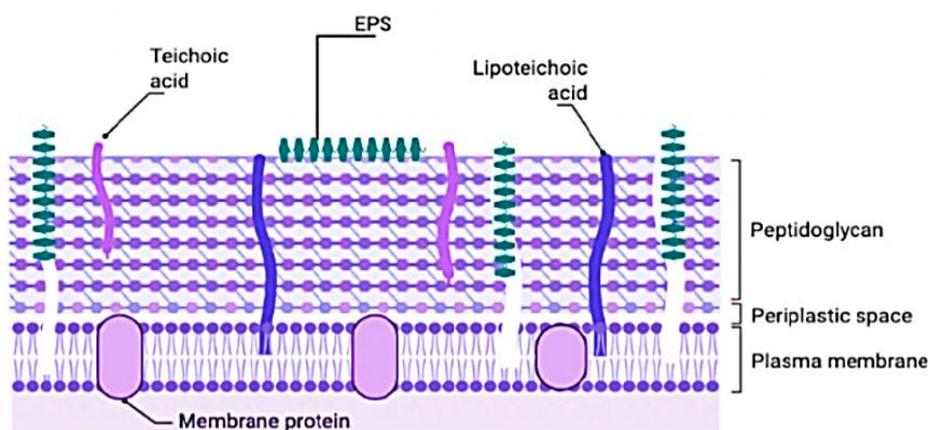
#### 1) Mengganggu Metabolisme Sel Mikroba

Kelangsungan hidup mikroba membutuhkan asam folat yang disintesis berasal dari asam amino para benzoat (PABA) (Ganiswara, 2012). Antibakteri bersifat antimetabolit dimana antibakteri bekerja menghalangi pada sulfonamida. Sulfonamida bisa mengganggu pertumbuhan sel dengan cara mengganggu sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfanamida secara struktur hampir sama dengan asam folat, *parabenzoic amino acid* (PABA), dan bekerja secara kompetitif bagi enzim-enzim yang secara pribadi mempersatukan PABA dan sebagian petidin menjadi asam dihidrofolat (Djide dan Sartini, 2008).

#### 2) Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel

Beberapa EPS juga telah terbukti sebagai antibakteri melalui kerusakan dinding sel bakteri atau efek disfungsi EPS dari bakteri asam laktat telah dilaporkan mengandung beberapa gugus fungsional misalnya karbonil dan gugus hidroksil berperan penting dalam mengerahkan efek antibakteri dari EPS (Abdalla dkk., 2021). EPS mampu menghambat bakteri patogen karena gugus hidroksil dan karbonil yang terdapat pada EPS akan menghambat pertumbuhan dari bakteri patogen. Kemudian terjadi hidrolisis yang berakibat kebocoran sel yang membuat sel mati (Murti dan Putra., 2020).

EPS mampu mengganggu struktur selubung sel bakteri, terutama lapisan peptidoglikan, diusulkan sebagai mekanisme penghambatan yang potensial ditunjukkan pada Gambar 2.5 (Abdalla, dkk., 2021). Bakteri Gram-positif memiliki dinding sel yang mengandung 40-50% peptidoglikan. Dinding sel yang mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat sendiri merupakan senyawa yang terdapat dalam dinding sel bakteri yang dapat dicapai oleh senyawa antibakteri. Asam teikoat berfungsi dalam proses pengaktifan enzim dimana enzim tersebut selanjutnya digunakan dalam proses sintesis protein bagi bakteri. Jenis polisakarida adalah polimer yang bersifat polar dan berfungsi sebagai transport ion positif terutama jalur keluar-masuk. Hal tersebut menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram-positif lebih polar, sehingga metabolit sekunder yang bersifat polar seperti gugus hidroksil dan karbonil pada EPS lebih mudah masuk ke dalam dinding sel. Hal ini dilakukan dengan cara merusak lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada suatu lapisan lipid yang bersifat non polar (Hariadi dkk., 2023).



**Gambar 2.5** Interaksi antara EPS pada dinding sel Gram-positif (Abdalla, dkk., 2021)

### 3) Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Antibakteri bekerja secara langsung di membran sel yang mempengaruhi permeabilitas serta mengakibatkan munculnya senyawa intraseluler mikroorganisme. Membran sel merupakan lapisan pada bawah dinding sel yang memiliki sifat permeabilitas selektif serta berfungsi mengontrol keluar masuknya substansi dari dalam serta luar sel, dan memelihara tekanan osmotik internal serta ekskresi. Beberapa antibiotik bersatu pada membran yang berfungsi menjadi ionophores yaitu senyawa yang memberi jalan masuknya ion abnormal. Proses ini bisa menghambat biokimia sel, contohnya gramisidin. Antibiotik polimiksin bisa Mengganggu membran sel sesudah bereaksi menggunakan fosfat di fosfolipid membran sel (Djide dan Sartini, 2008).

### 4) Penghambatan Terhadap Sintesis Protein

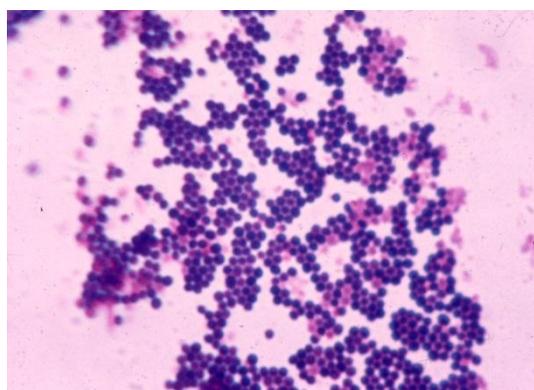
Selain itu, beberapa percobaan menunjukkan efek antibakteri dapat dilakukan dengan mengganggu integritas membran dan mendenaturasi kandungan protein. EPS yang memiliki gugus hidroksil dan karbonil yang akan berinteraksi dengan asam teikoat. Mekanisme EPS dalam menghambat pertumbuhan mikroba adalah dengan cara denaturasi protein. Konsentrasi EPS berhubungan dengan kerja antibakteri, keduanya memiliki hubungan yang lurus, artinya apabila konsentrasi EPS meningkat maka kerja antibakteri juga meningkat. Interaksi tersebut akan menghambat asam teikoat dalam mengaktifkan enzim, sehingga proses sintesis protein terhambat yang selanjutnya menyebabkan lisisnya bakteri (Murti dan Putra., 2020). Sel hidupnya tergantung terpeliharanya molekul-molekul pada keadaan alamiah. Kondisi atau substansi mengganti keadaan ini yaitu mendenaturasi protein dapat

mengganggu sel dan tidak bisa diperbaiki kembali. Suhu tinggi atau konsentrasi beberapa zat bisa menyebabkan koagulasi kerusakan total komponen seluler yang penting (Zhou, dkk., 2018).

#### 5) Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat

Asam nukleat adalah bagian yang sangat penting bagi perkembangbiakan sel. Untuk pertumbuhannya, kebanyakan sel tergantung kepada sintesis DNA, sedangkan RNA dibutuhkan untuk transkripsi serta penentuan informasi sintesis protein serta enzim. Begitu pentingnya DNA serta RNA pada proses kehidupan sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut bisa menyebabkan kerusakan total di sel. Oleh karena itu hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan menggunakan enzim DNA dan RNA polimerase bakteri, memblokir helix DNA. Misalnya seperti antibiotik quinolon, pirimetamin, sulfonamida, trimetoprim, serta trimetrexat, sedangkan metronidazole mengganggu sintesis DNA (Djide dan Sartini, 2008).

### 2.8 *Staphylococcus aureus*



**Gambar 2.6** *Staphylococcus aureus* (Cappuccino & Sherman, 2005)

Didasarkan oleh taksonominya, maka *Staphylococcus aureus* dapat digolongkan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
Filum : *Firmicutes*  
Kelas : *Cocci*  
Ordo : *Bacillales*  
Family : *Staphylococcaceae*  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Cappuccino & Sherman, 2005)

*Staphylococcus aureus* pertama kali dijelaskan pada tahun 1880-an. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif bulat, fakultatif anaerob, tumbuh pada suhu optimum 37°C, berdiameter 1 µm, tidak membentuk spora, menyerupai bentuk anggur. Koloni dari bakteri *Staphylococcus aureus* bisa tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Bentuk koloni dalam perbenihan padat, konsistensinya lunak, mengkilat dan cembung, warna koloni dari *Staphylococcus aureus* yaitu abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada saluran pencernaan makanan, kulit dan saluran pernafasan pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak dan infeksi saluran pernafasan. Namun, *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan berbagai kondisi lain yang terkadang sangat parah dan mengancam jiwa, seperti endokarditis infeksi, *Toksik Sindrom Syok* (TSS), sindrom kulit melepuh. Lebih lanjut, *Staphylococcus aureus* sering menjadi penyebab infeksi terkait biofilm, khususnya yang berkembang pada perangkat medis yang ada di dalam ruangan (Lowy, 1998).

Penggunaan *Nutrien agar* (NA) sebagai media regenerasi *Staphylococcus aureus* karena pada media NA bakteri tersebut mampu tumbuh dengan baik. NA

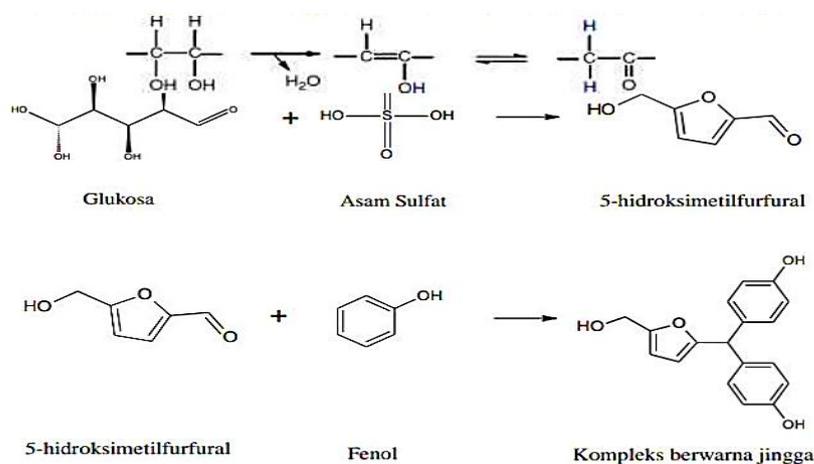
digunakan sebagai media untuk regenerasi, media ini juga dapat digunakan sebagai media penyimpan bakteri patogen (Juariyah dan Wulan., 2018). Pepton dalam media NA berfungsi sebagai sumber nitrogen organik utama dan mengandung vitamin serta karbohidrat. Ekstrak daging sapi dalam media NA adalah mengandung sumber nutrisi vitamin-organik, nitrogen-organik, karbon organik dan garam anorganik untuk menumbuhkan bakteri. Agar digunakan sebagai bahan pemat media (Volk dan Wheeler, 1998).

## **2.9 Pengukuran Kadar Total Gula Menggunakan Metode Sulfat-Fenol**

Metode sulfat–fenol adalah metode klasik yang dapat dimanfaatkan untuk menentukan kadar glukosa dalam sampel (Brummer, 2005). Metode sulfat – fenol bisa mendeteksi monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Meskipun mampu mendeteksi banyak jenis karbohidrat, tetapi metode ini akan menunjukkan absorptivitas yang berbeda di setiap jenis karbohidrat. Metode sulfat fenol dipilih karena mempunyai sensitivitas tinggi serta mudah dilakukan. Penentuan kadar gula pada eksopolisakarida didasarkan pada kurva standar, karena yang akan dicari adalah kadar gula dalam eksopolisakarida maka membutuhkan kurva standar (Nurjannah, 2017).

Prinsip metode sulfat–fenol adalah karbohidrat terdehidrasi saat reaksi dengan asam sulfat pekat sehingga bisa membentuk turunan furfural. Selanjutnya turunan furfural bereaksi dengan fenol yang menghasilkan warna jingga kekuningan stabil dan bisa dideteksi oleh spektrofotometer UV- Vis (Albalasmeh dkk., 2013). Gula termasuk dalam golongan karbohidrat ketika ditambahkan asam kuat lalu dipanaskan akan mengalami serangkaian reaksi.

Asam sulfat akan memecah polisakarida, oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida. Sedangkan pentosa menjadi senyawa furfural dan heksosa menjadi senyawa hidroksi metil furfural yang kemudian akan bereaksi dengan fenol membentuk warna jingga kekuningan. Reaksi glukosa dengan penambahan asam sulfat dan fenol berlangsung secara eksotermis ditandai dengan panas yang dihasilkan. Reaksi yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 2.5.



**Gambar 2.7** Reaksi pembentukan kompleks fenol-furfural (Brummer, 2005)

## 2.10 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida

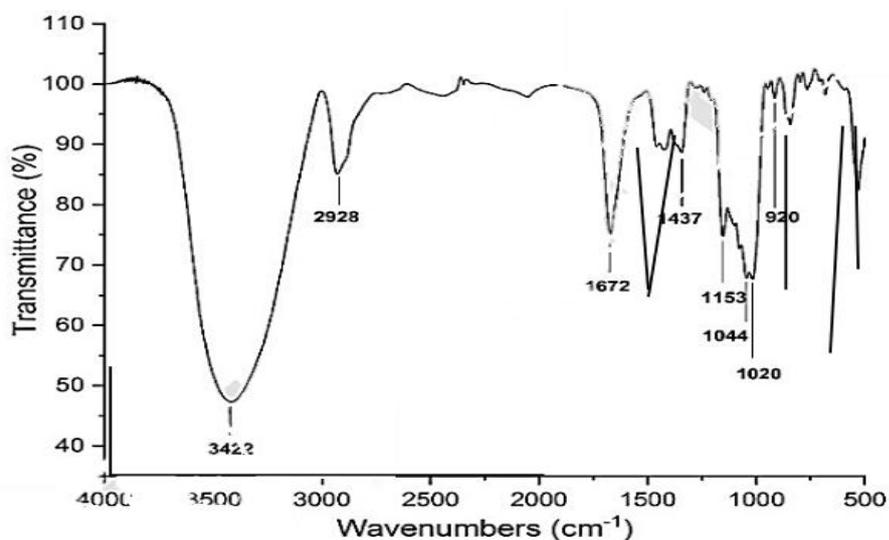
Analisa penentuan kadar protein eksopolisakarida dengan metode lowry, kadar protein tergolong senyawa yang tidak diinginkan sehingga perlu untuk dipisahkan. Metode lowry memiliki prinsip memakai reagen pendeteksi Folin-ciocalteu, reagen ini dipakai untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik, pada keadaan basa. Ion tembaga divalent ( $\text{Cu}_2^+$ ) dengan ikatan peptida yang dapat mereduksi  $\text{Cu}_2^+$  diubah menjadi tembaga monovalen ( $\text{Cu}^+$ ) (Bintang, 2010). Reagen *Folin-Ciocalteu* mendeteksi keberadaan residu oksidasi dimana gugus

fenolik tirosin dapat mereduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat yang berada di reagen tersebut menjadi molibden dan tungsten yang berwarna biru, hasil dari reduksi dapat dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar protein dapat diketahui dengan membaca kurva standar yang dibuat dengan larutan protein murni yang telah diketahui kadar proteinnya seperti *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang sudah memiliki rentang konsentrasi tertentu, kemudian konsentrasi sampel berprotein berada pada rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin naik (Sudarmadji dan Slamet dkk., 1981).

### **2.11 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)**

Spektroskopi *fourier transform infrared* (FTIR) merupakan spektroskopi yang mempelajari interaksi antara sinar *infrared* (IR) dan materi. Penggunaan FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam suatu sampel. Ketika sinar IR mengenai molekul maka akan terjadi interaksi vibrasi ikatan kimia yang menyebabkan perubahan polaritas dengan medan listrik gelombang elektromagnetik. Pita absorpsi khas muncul karena interaksi sinar IR dan gugus fungsi, setiap pita serapan menunjukkan interaksi pada gugus fungsi yang berbeda. Adanya gugus fungsi ditandai dengan terbentuknya puncak serapan sehingga dapat diidentifikasi jenis senyawa sampel dengan menghitung dan membandingkan panjang gelombang pada tiap puncak. Menurut Lakra (2019) Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan. Lakra dkk., (2019) telah melakukan identifikasi gugus fungsi EPS yang diperoleh dari *Weissella confusa* MD1 menggunakan FTIR (Gambar 2.8) menunjukkan gugus

*stretching* O-H hidroksil pada  $3422\text{ cm}^{-1}$ , gugus *stretching vibration* C-H pada  $2928\text{ cm}^{-1}$ , gugus *stretch* C=O pada  $1672\text{ cm}^{-1}$ , gugus *bending vibration* C-H pada  $1437\text{ cm}^{-1}$ , gugus *pyranose* dari gula pada  $1153\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-O-C polisakarida pada  $1044\text{ cm}^{-1}$ , dan ikatan  $\alpha$  1-6 glikosidik pada  $1020\text{ cm}^{-1}$ . Spektra FTIR EPS ditunjukkan pada Gambar 2.8.



**Gambar 2.8** Spektra FTIR EPS oleh *Weissella confusa* MD1 (Lakra dkk., 2019)

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022 – Mei 2023 di laboratorium bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya gelas ukur 250 mL, beaker glass 100 mL, Erlenmeyer 500 mL, pipet volume 5 mL, pipet volume 1 L, pipet tetes, labu ukur 250 mL, bola hisap, botol semprot, magnetik stirer, korek api, kawat *ose*, pembakar spiritus, cawan petri, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, *hot plate*, tabung reaksi, spatula, lemari asam, laminar *air flow*, rak tabung reaksi, tabung sentrifuge, pH meter, *autoclave*, *shaker*, *blank disk*, lemari pendingin, kapas, kertas label, pinset, aluminium foil, plastik wrap, *vortex*, sentrifuge dingin spektrofotometer UV-Vis, FTIR.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya *de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA)*, *Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck)*, DMSO 10 %, natrium hidroksida (NaOH), natrium klorida (NaCl) (*Merck*),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , HCl 0,1 N, fenol 5%, etanol absolut,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  96% (*Mallinckrodt*),

sukrosa (*Pronadisa*), pepton, ekstrak ragi,  $K_2HPO_4$ , glukosa,  $Na_2CO_3$  2%,  $CuSO_4$ , KNaT 1%, *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), Bovine Serum Albumin (BSA) (*merck*), alkohol 70% sebagai desinfektan, aquades, spiritus, dan starter *Weissella Confusa*, *Staphylococcus aureus* dari stok laboratorium bioteknologi jurusan kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh *Weissella confusa*. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAL) dengan pola faktorial tunggal yaitu variasi konsentrasi EPS yang digunakan dalam uji antibakteri adalah 0,625 ; 1,25; 2,5; dan 5 mg/mL dengan pengulangan sebanyak empat kali. Uji aktivitas antibakteri EPS menggunakan metode *kirby bauer* dengan bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan diukur diameter zona hambat disekitar *blank disk* dengan menggunakan jangka sorong. Analisis dalam penelitian ini adalah rendemen, aktivitas antibakteri, kadar gula total, kadar protein dan analisis FTIR.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan Media
  - 1.1 Pembuatan Media *de man rogosa and sharpe agar* (MRSA)
  - 1.2 Pembuatan Media *de man rogosa and sharpe broth* (MRSB)
  - 1.3 Pembuatan Media Produksi Eksopolisakarida

1.4 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

1.5 Pembuatan Media *Mueller Hinton Broth* (MHB)

1.6 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

2. Sterilisasi Alat dan Media

3. Regenerasi *Weissella confusa*

4. Pembuatan Inokulum *Weissella confusa*

5. Produksi Eksopolisakarida

6. Ekstraksi Eksopolisakarida

7. Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Kirby bauer*

7.1 Regenerasi *Staphylococcus aureus*

7.2 Pembuatan Inokulum *Staphylococcus aureus*

7.3 Uji Aktivitas Antibakteri Eksopolisakarida Terhadap *Staphylococcus aureus*

8. Analisis Kadar Total Gula dengan Metode Sulfat Fenol

9. Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida

10. Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida dengan *fourier transform infrared* (FTIR)

11. Analisis Data

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1 Pembuatan Media**

##### **3.5.1.1 Pembuatan Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA)**

Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) ditimbang sebanyak 6,82 gr, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dihomogenkan sampai mendidih menggunakan *hot plate*

kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer*. Kemudian media MRSA selanjutnya dimasukkan pada tabung reaksi masing - masing 4 mL. Sterilisasi pada *autoclave* di suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 20 menit. Dinginkan MRSA pada keadaan miring hingga memadat. Media ini digunakan untuk regenerasi *Weissella confusa*.

### **3.5.1.2 Media de Man Rogosa and Sharpe Broth (MRSB)**

*de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) ditimbang Sebanyak 5,22 gr, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dipanaskan *hot plate* sampai mendidih. Larutan MRSB kemudian dituangkan masing - masing 25 mL ke dalam Erlenmeyer 50 mL dan ditutup memakai *cotton plug* kemudian plastik wrap, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 20 menit. Media MRSB ini digunakan untuk pembuatan inokulum.

### **3.5.1.3 Pembuatan Media Produksi Eksopolisakarida (Dharmik dan Narkhede, 2020 termodifikasi)**

Media produksi EPS dibuat dengan menimbang sukrosa 12 gr, pepton 0,5 gr, ekstrak ragi 0,5 gr,  $K_2HPO_4$  1,5 gr,  $CaCl_2$  0,005 gr,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,001 gr, dan NaCl 0,001 gr kemudian dilarutkan pada aquades 250 mL. Selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Apabila terlalu asam ditambahkan NaOH 0,1 N dan apabila terlalu basa ditambahkan asam klorida (HCl) 0,1 N beberapa tetes. Kemudian dihomogenkan dan dipanaskan sampai mendidih menggunakan *hot plate* kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer*. Selanjutnya

disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 15 menit. Media ini digunakan untuk produksi eksopolisakarida.

#### **3.5.1.4 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)**

*Nutrient agar* (NA) ditimbang 2 gr kemudian dilarutkan dengan 100 mL aquades menggunakan labu ukur 100 mL, dipanaskan hingga mendidih menggunakan *hot plate*, dipindahkan pada tabung reaksi masing – masing 4 mL. Sterilisasi pada *autoclave* di suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 20 menit. Dinginkan NA pada keadaan miring hingga memadat. Media ini digunakan untuk regenerasi *Staphylococcus aureus*.

#### **3.5.1.5 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)**

*Mueller Hinton Agar* (MHA) ditimbang Sebanyak 3,8 gr, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dipanaskan *hot plate* sampai mendidih. MHA kemudian dituangkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditutup memakai *cotton plug* kemudian plastik wrap, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 20 menit. Media MHA ini digunakan untuk uji antibakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **3.5.1.6 Pembuatan Media *Mueller Hinton Broth* (MHB)**

*Mueller Hinton Broth* (MHB) ditimbang Sebanyak 2,1 gr, dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dipanaskan *hot plate* sampai mendidih. Larutan MHB kemudian dituangkan masing - masing 25 mL ke dalam Erlenmeyer 50 mL dan ditutup memakai *cotton plug* kemudian

plastik wrap, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 20 menit. Media MHB ini digunakan untuk pembuatan inokulum bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **3.5.2 Sterilisasi Alat dan Media**

Alat gelas yang akan digunakan pada penelitian tersebut dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus dengan rapi menggunakan kertas, ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Media yang sudah siap dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Setelah itu alat gelas disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit.

### **3.5.3 Regenerasi *Weissella confusa* (Kultsum, 2009)**

Diambil sebanyak 2 ose *Weissella confusa* yang sudah menjadi biakan dan diinokulasikan ke dalam media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) miring yang sudah tersedia. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. *Weissella confusa* yang sudah mengalami regenerasi digunakan untuk pembuatan stok inokulum.

### **3.5.4 Pembuatan Inokulum *Weissella confusa* (Ma'unatin, dkk., 2020)**

Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil sebanyak 3 ose biakan *Weissella confusa* ke dalam 25 mL media *de Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) yang tersedia. Kemudian di shaker pada kecepatan 100 rpm selama 16 jam pada suhu 37°C hingga fase eksponensial. Kekeruhan inokulum dari sel

*Weissella confusa* yang digunakan dilakukan penyetaraan dengan *Optical Density* (OD) 0,5 menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  600 nm.

### 3.5.5 Produksi Eksopolisakarida (Seesuriyachan., dkk., 2014 termodifikasi)

Media produksi eksopolisakarida sebanyak 250 mL. Media produksi eksopolisakarida kemudian ditambahkan inokulum *Weissella confusa* dengan OD 0,5 sebanyak 10% (v/v). Media yang sudah diinokulasi kemudian di shaker pada kecepatan 100 rpm selama selama 72 jam pada temperatur 37°C.

### 3.5.6 Ekstraksi Eksopolisakarida (Seo dkk., 2015 termodifikasi)

Media produksi hasil fermentasi diambil sebanyak 150 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 5000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan yang mengandung EPS diambil sebanyak 100 mL ditambahkan etanol absolut dingin (2 kali volume supernatan) dimasukan pada 500 mL Erlenmeyer dan didiamkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Kemudian dipisahkan endapan EPS yang didapat dengan filtrat, dikeringkan selama 6 jam pada suhu 60°C. Rendemen EPS kering ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen EPS } \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{\text{Berat eksopolisakarida kering (G)}}{\text{Volume (L)}} \dots\dots\dots (3.1)$$

### **3.5.7 Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **3.5.7.1 Regenerasi *Staphylococcus aureus* (Suryani, dkk., 2014)**

*Staphylococcus aureus* di ambil 1 ose dari masing-masing bakteri dan digoreskan pada media *Nutrien agar* (NA) miring yang sudah tersedia secara septis, kemudian diinkubasi pada temperatur 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

#### **3.5.7.2 Pembuatan Inokulum *Staphylococcus aureus* (Suryani, dkk., 2014)**

Stok kultur *Staphylococcus aureus* yang telah tumbuh diambil masing - masing 2 ose dari masing-masing biakan ke dalam 25 mL media *Mueller Hinton Broth* (MHB) yang tersedia. Kemudian di shaker pada kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C hingga fase eksponensial. Kekeruhan inokulum dari sel *Staphylococcus aureus* yang digunakan dilakukan penyetaraan dengan *Optical Density* (OD) 0,3 menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  600 nm.

#### **3.5.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri Eksopolisakarida Terhadap *Staphylococcus aureus* ( Jannah, Barroroh dan Ma'unatin, 2020)**

Eksopolisakarida (EPS) sebanyak 0,025 gr dilarutkan pada 5 mL aquades dan DMSO 10 %, kemudian dibuat konsentrasi 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah steril kemudian dicairkan hingga suhu 45<sup>0</sup>C. Sebanyak 100  $\mu$ L inokulum bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus* ditaruh pada cawan petri, selanjutnya dituangkan media MHA pada cawan petri untuk setiap bakteri uji, diratakan. Setelah media MHA mengeras, ditempelkan cakram ke permukaan media MHA dengan bantuan pinset. Sebanyak 25  $\mu$ L EPS masing - masing konsentrasi diteteskan pada *blank disk*

yang ada dalam satu cawan. Kemudian diinkubasi dalam posisi cawan tidak terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada setiap cawan tersebut diberikan sebuah kontrol yang berisi khloramphenicol sebagai kontrol positif dan aquades dan DMSO 10 %, sebagai kontrol negatif. Zona hambat disekitar blank disk diukur dengan jangka sorong.

### **3.5.8 Penentuan Kadar Gula Total dengan Metode Sulfat Fenol (Dubois, dkk., 1956)**

#### **3.5.8.1 Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Sulfat Fenol**

Membuat larutan induk glukosa sebanyak 1000 ppm dengan cara menimbang glukosa 0,1 gr dan dilarutkan sampai 100 mL. Larutan glukosa standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 mL. Kemudian dilakukan penambahan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dikocok. 5 mL asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat di lemari asap, didiamkan 10 menit, dikocok lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit dengan suhu 100°C kemudian diukur absorbansinya pada panjang  $\lambda$  490 nm.

#### **3.5.8.2 Penetapan Kadar Total Gula dengan Metode Sulfat Fenol**

EPS sebanyak 0,01 gr dilarutkan ke dalam 250 mL aquades dan dihomogenkan, larutan yang sudah homogen diambil sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% (b/v) dan dikocok. Selanjutnya ditambahkan 5 mL asam sulfat pekat dengan cepat di lemari asap didiamkan 10 menit, dikocok lalu ditempatkan dalam

penangas air dengan suhu 100°C selama 15 menit dan diukur absorbansinya pada panjang  $\lambda$  490 nm.

### **3.5.9 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry (Dahunsi. dkk., 2018)**

#### **3.5.9.1 Pembuatan Kurva Standar Bovine Serum Albumin (BSA)**

BSA ditimbang 0,03 gr dan dilarutkan dengan 10 mL aquades, dibuat konsentrasi 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm. Diambil masing - masing 1 mL konsentrasi, tambahkan 5 mL reagen lowry, divortex hingga homogen dan diinkubasi selama 10 menit, tambahkan 0,5 mL folin 1N, inkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, diukur absorbansinya pada UV-Vis  $\lambda$  660 nm.

#### **3.5.9.2 Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida**

Metode Lowry digunakan untuk analisa kadar protein eksopolisakarida. Ditimbang 0,03 gr eksopolisakarida, dilarutkan pada 5 mL aquades, diambil 1 mL eksopolisakarida , ditambahkan 5 mL reagen lowry, divortex hingga homogen dan inkubasi selama 10 menit, ditambahkan 0,5 mL folin 1 N, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan UV-Vis pada  $\lambda$  660 nm.

### **3.5.10 Identifikasi Gugus Fungsi Eksopolisakarida dengan *Fourier transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (Dahunsi dkk., 2018).**

Sampel EPS diambil 0,001 gr dan dihaluskan dengan 0,25 gr KBr kemudian ditekan dalam cetakan hingga diperoleh pelet KBr. Selanjutnya sampel dianalisis dengan FTIR pada frekuensi 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . Data yang diperoleh melalui uji

FTIR berupa gugus fungsional atau jenis ikatan tertentu pada bilangan gelombang tertentu.

### **3.5.11 Analisis Data**

Data yang didapatkan pada penelitian merupakan zona hambat yang dihasilkan dari aktivitas antibakteri eksopolisakarida ditentukan dengan cara diukur diameter zona hambat disekitar *blank disk* dengan menggunakan jangka sorong. Data ini kemudian dianalisis dengan ragam varian *One Way ANOVA*. Apabila terdapat adanya pengaruh beda signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan signifikansi 5%.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Hasil penelitian ini didapatkan eksopolisakarida yang diproduksi oleh *Weissella confusa* dengan media semi sintesis menghasilkan zona hambat terbesar adalah 3,7 mm pada konsentrasi 5 mg/mL eksopolisakarida dan zona hambat terkecil adalah 1,8 mm pada konsentrasi 0,625 mg/mL eksopolisakarida. Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA pada probabilitas 0,05 terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh konsentrasi EPS terhadap zona hambat uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil uji BNP terdapat satu pasang zona hambat yang berbeda signifikan yaitu pada konsentrasi 5 mg/mL yang beda nyata dengan konsentrasi 0,625 mg/mL.

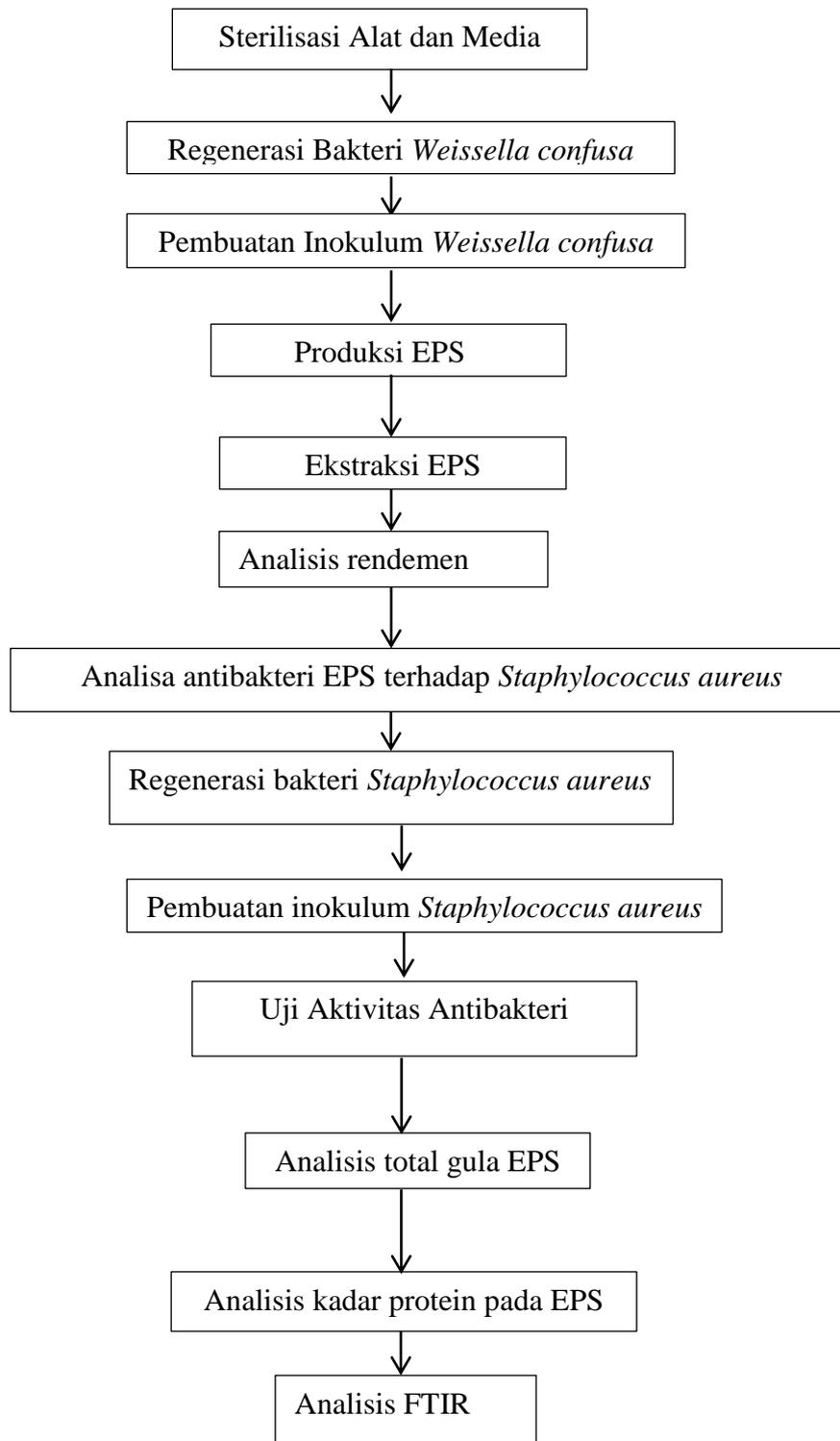
#### **5.2.Saran**

Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan bakteri patogen dari Gram-negatif dan penambahan variasi konsentrasi terhadap eksopolisakarida untuk memaksimalkan hasil uji antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

### LAMPIRAN

#### Lampiran 1: Rancangan Penelitian



**Lampiran 2: Skema Kerja**

**Lampiran 3: Perhitungan**

**Lampiran 4. Hasil analisa SPSS**

**4.1 hasil analisis uji antibakteri eksopolisakarida**

**Lampiran 5. Hasil analisa FTIR**

**Lampiran 6.Dokumentasi**



