

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI AIR CUCIAN BERAS SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

HANIS AINUR ROSYIDAH

NIM. 16620094



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

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI AIR CUCIAN BERAS SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

HANIS AINUR ROSYIDAH

NIM. 16620094

diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2023

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI AIR CUCIAN BERAS SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

HANIS AINUR ROSYIDAH

NIM: 16620094

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

Tanggal : 21 Juni 2023

Pembimbing I



Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 2016080 1 2062

Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



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

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI AIR CUCIAN BERAS SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
HANIS AINUR ROSYIDAH
NIM: 16620094

Telah dipertahankan

Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
Salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 21 Juni 2023

Ketua Penguji : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002
Anggota Penguji I : Ir. Liliek Harianie A.R., M.P
NIP. 19620901 199803 2 001
Anggota Penguji II : Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 2016080 1 2062
Anggota Penguji III : Okky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

()
()
()
()

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

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

1. Bapak dan Ibu tercinta, yang telah mendidik, merawat, mendoakan serta memberikan semangat dan dukungan dengan sangat tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Kakak-kakak saya serta seluruh keluarga besar Bani Kayat yang sudah mendoakan dan mensupport saya untuk tetap semangat dalam menyelesaikan skripsi.
3. Prilya Dewi Fitriyari, M.Sc., selaku dosen wali dan juga dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, serta memberikan ilmu yang tidak terhingga dari awal hingga akhir studi dan juga memberikan bimbingan dan semangat kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
5. Teman-teman di Lab Mikrobiologi yang telah berjuang bersama dan banyak membantu dalam proses penelitian satu sama lain.
6. Teman-teman seperjuangan (Sri Aprilia Sumarsiningsih, Lisana Sidqi Aliya, Munawaratun Nadhifah, Andita Asa Eka Nurrohmah, Safitriah Diningrum, Tri Rahayu Ningtiyas, Tantika Safitri, Elisa Sita Manora, dan Zahrotul Mubarakah) yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.
7. Sahabat-sahabat saya terutama Tania Kholifatul Mar'ah yang telah menjadi tempat berbagi suka duka, *thank you so much for being a good listener.*
8. *Last but not least, I wanna thank me. I wanna thank for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for never quitting, for just being at all times.*

Terima kasih sebanyak-banyaknya untuk semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini dan semoga

Allah SWT melimpahkan Rahmat dan Rahim-Nya kepada kalian semua, Aamiin
Yaa Rabbal 'Alamiin.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hanis Ainur Rosyidah
NIM : 16620094
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

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

Malang, 21 Juni 2023

Yang membuat Pernyataan



Hanis Ainur Rosyidah
NIM. 16620094

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

MOTTO

“MAN JADDA WA JADDA”

(Barang siapa yang bersungguh-sungguh, maka ia akan berhasil)

**“Kesempatan memang tidak datang dua kali, tapi kesempatan akan datang
untuk mereka yang tidak pernah berhenti mencoba”**

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hanis Ainur Rosyidah, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo.

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

ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh dan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari buah-buahan, sayuran, dan juga limbah, seperti halnya limbah air cucian beras. Air cucian beras menjadi limbah rumah tangga dengan jumlah yang sangat berlimpah karena dianggap tidak berguna. Faktanya, air cucian beras mengandung beberapa zat yang sangat bermanfaat bagi manusia. Salah satunya yaitu kandungan karbohidrat yang cukup tinggi sehingga sangat potensial sebagai sumber bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memiliki senyawa-senyawa protein dan antibakteri seperti asam laktat, asam asetat, H₂O₂, dan bakteriosin. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* seringkali menjadi penyebab penyakit diare. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada air cucian beras yang telah difermentasi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Perlakuan yang diberikan yaitu dengan melakukan pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia (uji katalase dan uji tipe fermentasi), serta pengujian isolat BAL yang mampu menghasilkan antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode cakram. Hasil isolasi diperoleh 3 isolat yaitu AL1, AL2, dan AL3. Setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis, pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase dan uji tipe fermentasi, ketiga isolat tersebut termasuk BAL yang diduga genus *Streptococcus*. Kemudian diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat BAL berpotensi menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang telah direndam isolat BAL.

Kata Kunci: *Air Cucian Beras*, *Bakteri Asam Laktat*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Isolation and characterization Lactic Acid Bacteria from Rice Washing Water as
Antibacterial *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***

Hanis Ainur Rosyidah, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo.

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

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are bacteria that are beneficial to the health of the body and improve the balance of intestinal microflora. Lactic acid bacteria can be isolated from fruits, vegetables, and waste, such as rice washing water. Rice washing water becomes household waste in very large quantities because it is considered useless. In fact, rice washing water contains several substances that are very beneficial to humans. One of them is the carbohydrate content which is quite high so it is very potential as a source of lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria have protein and antibacterial compounds such as lactic acid, acetic acid, H₂O₂, and bacteriocins. These compounds can inhibit pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria are often the cause of diarrheal disease. This study aims to determine the type of lactic acid bacteria found in rice washing water that has been fermented as an antibacterial for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The treatment given was by observing macroscopic, microscopic, and biochemical tests (catalase test and fermentation type test), as well as testing LAB isolates that were capable of producing *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* antibacterials using the disc method. The isolation results obtained 3 isolates namely AL1, AL2, and AL3. After macroscopic observation, Gram staining, endospore staining, catalase test and fermentation type test, the three isolates included LAB which was suspected to be of the genus *Streptococcus*. Then tested the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The test results showed that the LAB isolates had the potential to inhibit the growth of the two test bacteria. This is indicated by the formation of a clear zone around the disc paper which has been soaked by LAB isolates.

Keyword: Rice Washing Water, Lactic Acid Bacteria, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

عزل وتوصيف بكتيريا حمض اللاكتيك من مياه غسل الأرز كمضاد لجراثيم *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*

هانس عين الرشيدة، فرليا ديوي فطرياساري، أوكي بكاس فراستيو

قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا
جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

بكتيريا حمض اللاكتيك هي بكتيريا مفيدة لصحة الجسم وتحسين توازن البكتيريا المعوية. يمكن عزل بكتيريا حمض اللاكتيك من الفواكه والخضروات والمخلفات مثل مياه غسيل الأرز. تصبح مياه غسيل الأرز نفايات منزلية بكميات كبيرة جداً لأنها تعتبر غير مجدية. في الواقع، يحتوي ماء الأرز على العديد من المواد المفيدة جداً للإنسان. أحدها هو محتوى الكربوهيدرات المرتفع جداً لذا فمن المحتمل جداً أن تكون مصدراً لبكتيريا حمض اللاكتيك. تحتوي بكتيريا حمض اللاكتيك على مركبات بروتينية ومضادة للبكتيريا مثل حمض اللاكتيك وحمض الخليك و H_2O_2 والبكتريوسينات. يمكن أن تمنع هذه المركبات البكتيريا المسببة للأمراض مثل *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*. في الغالب كان بكتريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* سببا لمرض الإسهال. الهدف من هذا البحث لتحديد نوع بكتيريا حمض اللاكتيك الموجودة في ماء غسيل الأرز المخمر كمضاد لجراثيم *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. تم العلاج بملاحظة الفحوصات الميكروسكوبية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية (اختبار الكاتالاز واختبار نوع التخمر)، وكذلك اختبار عزلات BAL القادرة على إنتاج مضادات بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة القرص. تم الحصول على 3 عزلات من العزلة وهي AL1, AL2, وAL3. بعد الملاحظة العيانية، تليخ الجرام، تليخ الأبواغ، اختبار الكاتالاز واختبار نوع التخمر، اشتملت العزلات الثلاثة على LAB الذي يشبه في أنه من جنس Streptococcus. ثم اختبر النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. أظهرت نتائج الاختبار أن عزلات BAL لديها القدرة على تثبيط نمو بكتيريا الاختبار. يشار إلى ذلك من خلال تكوين منطقة واضحة حول ورقة القرص التي تم نقعها بواسطة عزلات BAL.

الكلمات المفتاحية: مياه غسيل الأرز، بكتريا حمض اللبنيك، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohim, Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”. Tidak lupa shalawat serta salam kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW yang telah menegakkan diinul islam yang terpatri hingga akhirul zaman Aamiin.

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

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen wali dan dosen pembimbing I yang telah membimbing dan memberikan masukan dengan penuh kesabaran dan keikhlasan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
5. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku dosen pembimbing II, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaikannya tugas akhir ini.
6. Seluruh dosen dan laboran di program studi biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dengan setia menemani dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

7. Bapak dan Ibukku serta seluruh keluarga besarku tercinta yang telah memberikan doa, dukungan, semangat dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan program studi ini.
8. Teman-teman Biologi C-16, Gading Putih 16, dan juga sahabat-sahabat saya yang telah mmbantu dan memberi semangat.

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

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PERSETUJUAN	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Air Cucian Beras	9
2.2 Bakteri Asam Laktat	9
2.3 Bakteri Uji	13
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.3.2 <i>Eschericia coli</i>	14
2.4 Teknik Isolasi Mikroba	17
2.5 Media Selektif	17
2.5.1 MRSA	17
2.5.2 MRSB	18
2.6 Antimikroba	19
2.6.1 Sifat-Sifat Antimikroba	20
2.6.2 Mekanisme Kerja Zat Antimikroba	21
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	23
3.2 Waktu dan Tempat	23
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas	23

3.3.2 Variabel Terikat	24
3.3.3 Variabel Kontrol	24
3.4 Alat dan Bahan	24
3.4.1 Alat	24
3.4.2 Bahan	24
3.5 Prosedur Penelitian	25
3.5.1 Sterilisasi Alat	25
3.5.2 Pembuatan Media.....	25
3.5.3 Isolasi BAL dari Fermentasi Air Cucian Beras.....	26
3.5.4 Pemurnian Isolat BAL dari Fermentasi Air Cucian Beras	27
3.5.5 Karakterisasi BAL dari Fermentasi Air Cucian Beras	27
3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	30
3.6 Analisis Data	32
3.7 Alur Penelitian	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras	33
4.2 Pewarnaan Gram	35
4.3 Pewarnaan Endospora.....	37
4.4 Uji Katalase.....	38
4.5 Uji Tipe Fermentasi	39
4.6 Uji Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	40
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Beberapa Zat pada Limbah Air Cucian Beras	9
4.1 Karakterisasi Morfologi Koloni BAL dari Air Cucian Beras	33
4.2 Kategori Diameter Zona Hambat pada Pengujian Antibakteri	44
4.3 Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolat BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Morfologi Bakteri <i>Staphilococcus aureus</i>	14
2.2. Morfologi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	15
4.1 Hasil Pewarnaan Gram BAL pada Air Cucian Beras	36
4.4 Hasil Pewarnaan Endospora Isolat BAL pada Air Cucian Beras	37
4.5 Hasil Pengamatan Uji Katalase Isolat BAL pada Air Cucian Beras	38
4.6 Hasil Pengamatan Uji Tipe Fermentasi Isolat BAL pada Air Cucian Beras	39
4.7. Zona Hambat pada Uji Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
4.8. Zona Hambat pada Uji Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	41

DAFTAR LAMPIRAN

1. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Makroskopis Isolat BAL dari Air Cucian Beras	58
2. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Mikroskopis Isolat BAL dari Air Cucian Beras	59
3. Gambar Hasil Isolasi dari Air Cucian Beras	60
4. Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat BAL dari Air Cucian Beras	61
5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isolat BAL dari Air Cucian Beras	62
6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat BAL dari Air Cucian Beras	63
7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat BAL dari Air Cucian Beras	64
8. Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolat BAL dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	65
9. Gambar Aktivitas Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	66

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Keterangan
BaCl ₂	Barium Clorida
BAL	Bakteri Asam Laktat
CaCO ₃	Kalsium Karbonat
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
MRSA	<i>De Mann Rogosa Sharpe Agar</i>
MRSB	<i>De Mann Rogosa Sharpe Broth</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NaCl	Natrium Clorida

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroorganisme merupakan makhluk hidup yang memiliki ukuran paling kecil, dengan jumlah sel yang beragam, mulai dari mikroorganisme yang hanya terdiri dari sel tunggal (*uniseluler*) maupun bersel banyak (*multiseluler*) (Kumar, 2012). Mikroorganisme saling berinteraksi dengan sesama maupun dengan organisme lain dengan tujuan memberikan beraneka ragam efek, baik efek menguntungkan maupun merugikan. Namun, mayoritas mikroorganisme memberikan efek menguntungkan dalam bidang bioteknologi (Faridah & Sari, 2019). Allah berfirman dalam Al-Quran Surat Al-Baqarah ayat 26:

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً ۖ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا ۖ وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ۚ﴾ ٢٦

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

Al-Misbah menjelaskan dalam tafsirnya bahwa Allah memberikan perumpamaan kepada manusia untuk menjelaskan segala hakikat dengan bermacam makhluk hidup dan benda, baik kecil maupun besar. Orang-orang yang tidak beriman menganggap remeh perumpamaan dengan makhluk-makhluk kecil seperti lalat dan laba-laba ini. Allah menjelaskan bahwa Dia tidak merasa enggan

seperti yang dirasakan manusia, maka Dia pun tidak segan-segan untuk menggambarkan bagi hamba-hamba-Nya segala sesuatu yang dikehendaki-Nya meskipun dengan hal-hal yang sangat kecil. Allah dapat menjadikan nyamuk atau yang lebih rendah dari itu sebagai perumpamaan seperti mikroorganisme.

Bakteri asam laktat termasuk dalam salah satu kelompok mikroorganisme terpenting yang diaplikasikan dalam industri makanan dan bioteknologi dan biasanya digunakan sebagai kultur starter dalam produksi produk susu dan produk fermentasi (Garbacz, 2022). Keunggulan dari Bakteri Asam Laktat diantaranya dapat menghasilkan senyawa bakteriosin dan senyawa antibakteri lainnya (Pratiwi dkk, 2017). Senyawa bakteriosin merupakan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen atau disebut juga sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan kemampuan suatu senyawa yang dapat menghambat kerja enzim, protein, sintesis asam nukleat, dan merusak dinding sel bakteri (Pelczar, 2005). Antibakteri merupakan senyawa yang diproduksi oleh mikroorganisme dalam konsentrasi kecil yang dapat menghambat dan membunuh proses kehidupan atau pertumbuhan mikroorganisme (Menon & Satria, 2017). Mikroorganisme yang memiliki kemampuan menghasilkan zat antimikroba salah satunya adalah bakteri asam laktat (Kasi dkk, 2017). Beberapa jenis zat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu asam laktat sebagai produk utama, hidrogen peroksida, diasetil dan juga bakteriosin. Semua zat tersebut yang mencegah perkembangbiakan bakteri pembusuk makanan dan juga bakteri patogen (Mokoena, 2017).

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik. Probiotik adalah suplemen dari mikroba hidup yang dapat

mengganti aktivitas metabolik mikrobiota alami usus dan mengatur reaktivitas sistem imun yang bermanfaat bagi kesehatan (Nurnaafi dkk, 2015). Syarat bakteri probiotik adalah tidak bersifat patogenik dan toksigenik, juga mampu menempel dan mengkolonisasi saluran pencernaan, dapat memanfaatkan nutrisi pada substrat yang ada, dapat bertahan selama di saluran cerna, memiliki stabilitas dan viabilitas yang baik dalam bentuk utuh di dalam tubuh pengonsumsi, memberikan efek menguntungkan kepada *host* atau pengonsumsinya dengan mencegah infeksi atau penyakit, meningkatkan kesehatan atau meningkatkan nutrisi (Kasi dkk, 2017).

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Bakteri asam laktat memiliki peran yang sangat baik dalam industri makanan dan fungsi probiotik. Bakteri asam laktat dapat memecah zat makromolekul dalam makanan, termasuk pemecahan polisakarida yang tidak dapat dicerna dan perubahan rasa yang tidak diinginkan (Wang *et al.*, 2021). Asam laktat yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan berbagai tipe bakteri patogen dan bakteri pembusuk termasuk spesies Gram negatif dalam famili Enterobacteriaceae dan Pseudomonadaceae atau yang termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif seperti *L. monocytogenes*, *Mycobacterium* spp, *S. aureus*, *C. perfringens*, dan *B. cereus* (Cotter & Hill, 2003). Hampir semua bakteri asam laktat hanya memperoleh energi dari metabolisme gula, sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang kaya nutrisi. Seperti kemampuan mereka untuk menghasilkan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin (El-Hawary & Mohamed, 2014). Selain itu bakteri asam laktat juga menghasilkan karbondioksida yang dapat menghambat

bakteri perusak dan patogen makanan dengan menyebabkan lingkungan lebih anaerob dan merusak permeabilitas membran sel (Kasi dkk, 2017).

Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber alam maupun selama proses fermentasi beberapa makanan (Misgiyati & Widowati, 2002). Beberapa hasil penelitian memaparkan bahwa pada buah-buahan, sayuran, seperti asinan buah dan sayur, produk fermentasi susu, buah durian, nanas, cacao, pisang, dan beberapa buah lainnya adalah potensial sebagai sumber BAL (Kusumawati, 2003; Nurhayati dkk, 2011). Selain pada buah-buahan dan sayuran, BAL juga dapat ditemukan pada beberapa limbah seperti limbah sayur bayam dan sawi, dan juga pada limbah air cucian beras (Leko dkk, 2018; Sasmita dkk, 2018).

Beras menempati urutan pertama sebagai salah satu kebutuhan pokok bagi sebagian besar masyarakat Indonesia (Adlin dkk, 2019). Proses pengolahan beras menjadi nasi umumnya dicuci dengan air terlebih dahulu kemudian air yang dihasilkan dibuang ke lingkungan, akibatnya air cucian beras menjadi limbah rumah tangga yang jumlahnya sangat berlimpah. Masyarakat Indonesia sangat potensial untuk dapat memanfaatkan limbah air cucian beras (Air leri) karena didalam air cucian beras masih mengandung zat yang bermanfaat bagi manusia dan limbah ini belum banyak dimanfaatkan (Abror, 2018).

Pemanfaatan air cucian beras saat ini lebih banyak dilakukan oleh para peneliti dibidang pertanian. Penelitian lebih banyak diarahkan pada pemanfaatan air cucian beras sebagai penyubur tanaman seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Abror (2018) terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman sawi, pemanfaatan air cucian beras sebagai pupuk organik pada tanaman seledri pada penelitian Lalla

(2018), serta pemanfaatan air cucian beras sebagai bahan baku pembuatan bioetanol padat seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Oktavia (2013).

Air cucian beras mengandung beberapa zat berupa karbohidrat, protein, vitamin B1, vitamin B12, dan beberapa mineral (Akib *et al.*, 2014) seperti fosfor, kalium, magnesium, sulfur, dan zat besi (G. M. dkk, 2012). BAL dapat memanfaatkan karbohidrat sebagai substrat penghasil metabolit aktif pada proses pertumbuhannya (Reuter *et al.*, 2002). Karbohidrat dapat dihidrolisa untuk menghasilkan glukosa, kandungan glukosa ini merupakan salah satu komponen utama dalam fermentasi asam laktat (Oktavia, 2013). Hasil penelitian sebelumnya tentang BAL dari fermentasi air cucian beras dengan melakukan uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, katalase, motilitas, tipe fermentasi, ketahanan suhu yang berbeda dan uji konsentrasi NaCl diperoleh 2 genus isolat BAL yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Streptococcus* sp. (Susilowati, 2016).

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat pada tubuh manusia, akan tetapi dapat bersifat patogen sehingga menyebabkan timbulnya berbagai penyakit infeksi pada manusia (Parija, 2009). Kedua bakteri ini merupakan bakteri patogen yang menyebabkan diare dan masih menjadi masalah utama dalam kesehatan masyarakat. Diare juga dapat berpotensi mengakibatkan kematian (Fitri dan Driyanti, 2018).

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dengan angka kejadian penyakit diare yang masih tinggi. Angka kematian balita di Indonesia akibat diare sekitar 2,8 juta setiap tahun. Provinsi Jawa Timur merupakan daerah kedua setelah Sulawesi Tengah dengan sebaran frekuensi Kejadian Luar Biasa terbesar di Indonesia (Kemenkes, 2011). Kasus diare di Indonesia lebih sering disebabkan oleh

bakteri *Vibrio cholerae*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Hardi, 2012).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat hidup didalam usus manusia (Hastari, 2012). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia maupun hewan (Sannasiddappa *et al.*, 2011). Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain infeksi kulit ringan, keracunan makanan, diare, bakteremia, endokarditis, dan osteomielitis. Gejala keracunan makanan akibat *Staphylococcus aureus* adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang diikuti oleh diare (Karimela, 2017).

Escherichia coli merupakan salah satu flora normal yang biasanya hidup di saluran pencernaan salah satunya pada daerah usus (Pelczar dan Chan, 2008). Ketika kondisi melemahnya imun tubuh dan meningkatnya jumlah *E. coli* dapat menyebabkan infeksi. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* antara lain adalah infeksi diare, saluran kemih, sepsis atau meningitis (Nataro dan kaper, 1998). Umumnya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat diatasi oleh produk metabolisme BAL berupa asam laktat (Rachmawati dkk, 2005).

Berdasarkan uraian diatas, yang mendasari peneliti mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL dari air cucian beras yaitu digunakan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sehingga, perlu diteliti lebih lanjut karakterisasi morfologi yang dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis dan uji biokimia, sedangkan untuk uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram. Penelitian ini diharapkan air cucian beras yang belum dimanfaatkan dan

masih sebagai limbah yang dianggap tidak berguna dapat dimanfaatkan sebagai obat antibiotik untuk meningkatkan nilai gunanya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah pada penelitian ini yakni:

1. Apakah jenis genus isolat kelompok BAL yang dapat diperoleh dari air cucian beras?
2. Apakah isolat BAL yang berhasil diisolasi dari air cucian beras memiliki kemampuan menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan pada penelitian ini yakni:

1. Mengetahui isolat BAL dari air cucian beras.
2. Mengetahui isolat BAL yang mampu menghasilkan antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Bakteri Asam Laktat (BAL) terdapat dalam air cucian beras
2. Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari hasil isolasi air cucian beras mempunyai kemampuan dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang keberadaan Bakteri Asam Laktat (BAL) pada air cucian beras.

2. Memberikan informasi untuk penelitian selanjutnya tentang keefektifan bakteri asam laktat dari air cucian beras sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Memberikan solusi alternatif kepada masyarakat mengenai pemanfaatan air cucian beras dalam rangka penyediaan senyawa antimikroba yang alami untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Air cucian beras diambil dari limbah proses pencucian beras
2. Bakteri yang diamati adalah BAL di dalam air cucian beras
3. Isolat bakteri patogen sebagai bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *S. aureus* (Gram positif) dan *E. coli* (Gram negatif) yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Metode uji aktivitas antibakteri dengan difusi cakram dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Cucian Beras

Air cucian beras atau disebut dengan leri merupakan air yang diperoleh dari proses pencucian beras. Air cucian beras cukup mudah didapatkan karena pada umumnya masyarakat Indonesia menggunakan beras (nasi) sebagai makanan pokok yang mengandung karbohidrat tinggi untuk memenuhi kebutuhan energi. Selama ini air cucian beras masih belum banyak dimanfaatkan dan biasanya hanya dibuang begitu saja. Sebenarnya didalam air cucian beras masih mengandung senyawa organik seperti karbohidrat dan vitamin seperti thiamin yang masih dapat dimanfaatkan (Eni & Rosdiana, 2015).

Air cucian beras mengandung beberapa unsur kimia yang banyak terdapat pada pericarpus dan aleuron yang ikut terkikis (Hidayatullah, 2012). Kandungan beberapa unsur kimia air limbah cucian beras secara umum yang disajikan pada tabel 2.1 berikut (Wardiah dkk, 2014):

Tabel 2.1 Kandungan Beberapa Zat pada Limbah Air Cucian Beras

Komposisi	Jumlah (%)
Karbohidrat	90
Protein	8,77
Lemak	1,09

2.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang memiliki kemampuan membentuk asam laktat dari metabolisme karbohidrat dan tumbuh pada pH lingkungan yang rendah (Mokoena, 2017). Secara ekologis, kelompok

bakteri asam laktat ini telah diisolasi dari berbagai macam habitat yang anggota spesiesnya dapat mendominasi macam-macam habitat seperti tanaman, jerami, sayuran, produk air susu, produk daging, rongga mulut maupun perut hewan (Sudarmadji & Kuswanto, 1989).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora, umumnya berbentuk *coccus* atau *basil*, dan termasuk katalase negatif (Mokoena, 2017). BAL umumnya tidak bersifat motil, bersifat anaerob, dan oksidase positif (Romadhon dkk, 2012). Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, dan juga mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Syahrurachman dkk, 1994).

Bakteri Asam Laktat termasuk dalam kelompok bakteri yang memenuhi status GRAS (*Generally Recognize as Safe*), yaitu bakteri yang aman bagi manusia. Mekanisme kerja bakteri asam laktat dengan cara memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam-asam organik. Salah satu produk utama yang dihasilkan dari fermentasi tersebut adalah asam laktat oleh karena itu disebut Bakteri Asam Laktat (BAL) (Zotta *et al.*, 2009). BAL adalah salah satu mikroba yang memiliki peran penting yang digunakan dalam fermentasi makanan, serta dalam meningkatkan rasa dan tekstur pada produk makanan fermentasi. BAL diklasifikasikan dalam empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus* (Quinto *et al.*, 2014).

Lactobacillus merupakan genus terbesar dengan lebih dari 100 spesies yang kaya akan karbohidrat (Mokoena, 2017). Spesies dari genus *Lactobacillus* sebagian besar diperoleh dari hasil isolasi saluran pencernaan manusia dan binatang. Spesies

bakteri dari genus *Lactobacillus* terbesar kedua diperoleh dari sayuran dan produk fermentasi (Mokoena, 2017). BAL yang diperuntukan dalam proses fermentasi seperti *Lactobacillus bulgaricus* (*L.bulgaricus*), *L.casei*, *L.plantarum*, *L.acidophilus* (Syahrurachman dkk, 1994). Spesies bakteri dari genus *Lactobacillus* memiliki karakteristik bentuk sel rods atau coccobacilli, Gram positif, katalase negatif, aero-toleran atau anaerobic, dan mampu menghasilkan asam laktat dari substrat glukosa (Widowati dkk, 2014). Spesies bakteri dari genus *Lactobacillus* dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan tipe fermentasinya yaitu heterofermentatif dan homofermentatif (Wardinal dkk, 2019).

Spesies bakteri dari genus *Leuconostoc* sebagian besar dapat diperoleh dari hasil isolasi daging dingin, bahan tanaman, produk fermentasi susu, dan *wine* (Mokoena, 2017). Spesies bakteri dari genus *Leuconostoc* memiliki karakteristik bentuk sel *coccus*, Gram positif, katalase negatif, non-motil, heterofermentatif, anaerob fakultatif, dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 2%, 4%, dan tidak dapat tumbuh pada NaCl 6,5% (Sari dkk, 2012).

Spesies bakteri dari genus *Pediococcus* berkaitan dengan pembusukan minuman fermentasi, terutama bir (Mokoena, 2017). Spesies bakteri dari genus *Pediococcus* memiliki karakteristik bentuk sel *coccus* dan membentuk tetrad, Gram positif, katalase negatif, dan homofermentatif (Wikandari, 2012).

Spesies bakteri dari genus *Streptococcus* memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat dengan tepian rata dan warna koloni putih sampai putih kekuningan, sel bakteri berbentuk *coccus* dengan Gram positif, mampu memfermentasikan sukrosa dan laktosa, menghasilkan gas pada umumnya tersusun berpasangan atau dalam bentuk rantai. Semua spesiesnya bersifat nonmotil,

nonspora dan fakultatif anaerob. Tidak dapat mereduksi nitrat, dapat memfermentasikan glukosa dengan produk utama adalah asam laktat, dan dapat mendegradasi selulosa pada limbah pertanian (Supriyatna dkk, 2012).

Bakteri asam laktat memiliki banyak manfaat dalam industri makanan. Bakteri asam laktat digunakan untuk meningkatkan cita rasa makanan fermentasi, meningkatkan nutrisi makanan, mengurangi zat berbahaya dan memperpanjang umur simpan. Selain itu, BAL digunakan sebagai probiotik untuk meningkatkan kesehatan di dalam tubuh (Wang *et al.*, 2021). Bakteri asam laktat harus memiliki sifat probiotik. Aktivitas antimikroba, resistensi terhadap sistem pencernaan, aktivitas antikarsinogenik, dan mampu meningkatkan penyerapan usus termasuk sifat probiotik. Bakteri probiotik harus memiliki sifat esensial seperti ketahanan terhadap kondisi lambung dan usus, dimana asam dan empedu merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Bakteri probiotik yang sudah banyak dikenal adalah kelompok bakteri asam laktat dan merupakan mikroorganisme yang aman disebut *food grade microorganism* (Ramadhanti *et al.*, 2021).

Karakterisasi morfologi BAL umumnya dilakukan dengan dua cara yaitu pengamatan makroskopis dan pengamatan mikroskopis. Karakterisasi morfologi BAL secara makroskopis dilakukan dengan cara melihat langsung morfologi isolat bakteri yang tumbuh pada medium. Karakterisasi morfologi BAL secara mikroskopis dilakukan dengan uji pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora (Romadhon dkk, 2012). Selain itu, karakterisasi BAL juga diperlukan uji tipe fermentasi, uji suhu, dan uji toleransi suhu (NaCl) (Zotta *et al.*, 2009).

2.3 Bakteri Uji

Bakteri yang keberadaanya banyak sekali ini, memungkinkan untuk menjadi salah satu penyebab penyakit pada manusia (Radji, 2011). Bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen (Darmadi, 2008). Bakteri patogen yang menyebabkan penyakit ineksi pada manusia contohnya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tidak berspora, dan non motil. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang tumbuh pada suhu optimum 37°C. Bakteri ini membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk, 2008). Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram mengkilat dan konsistensinya lunak. Pada lempeng agar dan darah umumnya koloni lebih kasar dan pada varietasi tertentu koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis (Syahrurahman dkk, 1994).

Menurut Syahrurahman dkk, (1994) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria

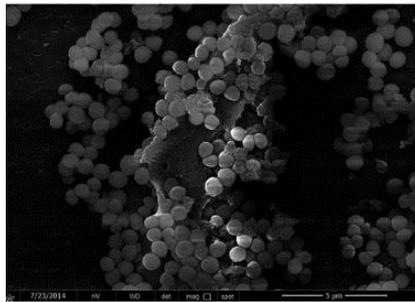
Kingdom : Eubacteria

Ordo : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.1. Morfologi *S. aureus* Dilihat Melalui Mikroskop Elektron

Sumber: (Zajmi *et al.*, 2015)

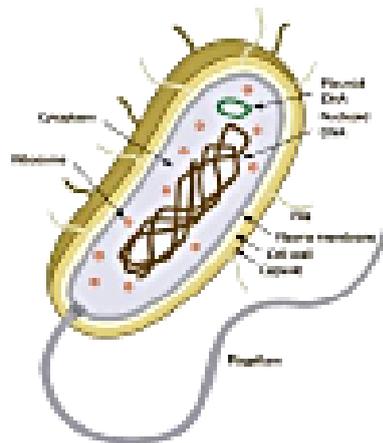
Infeksi yang di sebabkan oleh *S. aureus* yaitu secara endogen dan eksogen atau berkontak langsung. Infeksi endogen dapat ditularkan secara tidak langsung melalui makanan, infeksi eksogen dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit (Gibson, 1996). Sumber utama infeksi *S. aureus* adalah flora normal dalam tubuh pada manusia dengan sistem kekebalan tubuh menurun. Infeksi serius akan terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan hormon adanya penyakit, luka, atau perlakuan menggunakan obat lain yang memengaruhi imunitas sehingga terjadi pelemahan inang (Madigan *et al*, 2008).

2.3.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia.

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Bakteri ini bersifat motil dengan flagel peritrik yang dimilikinya, tetapi beberapa ada yang non motil. *Escherichia coli* memiliki flagel peritrikus karena flagelnya terdapat disekujur tubuh. Selain itu bakteri ini juga memiliki pili yaitu berupa fibril (Purwoko, 2007).

Bakteri *E. coli* mempunyai alat gerak berupa flagel dan tersusun dari sub unit protein yang disebut flagelin, yang mempunyai berat molekul rendah dengan ukuran diameter 12-18 nm dan dengan panjang 12 μm , kaku dan berdiameter lebih kecil dan tersusun dari protein, pili dapat berfungsi sebagai jalan pemindahan DNA saat konjugasi. Selain itu, mempunyai kapsul atau lapisan lendir yang merupakan polisakarida tebal dan air yang melapisi permukaan luar sel (Ikmalia, 2008).



Gambar 2.2. Morfologi sel *E. coli*

Sumber: (Hussin, 2019)

Bakteri *E. coli* dapat tumbuh baik pada hampir semua media yang bisa dipakai di dalam laboratorium mikrobiologi. Bakteri ini merupakan salah satu kelompok coliform yang dapat bertahan hidup di medium sederhana menfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44°C (Elfidasari, 2011). Bakteri *E. coli* bersifat indol positif, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metal (methyl red) positif. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C (Juliantina, 2009).

Menurut Elfidasari (2011) klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Classis : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

Escherichia coli biasanya berkolonisasi di saluran pencernaan dalam beberapa jam setelah masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik (Suriawiria, 1996). Bakteri *E. coli* biasanya digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi *feces* dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, sehingga menyebabkan terjadinya beberapa infeksi yang berasosiasi dengan enteropatogenik kemudian menghasilkan enterotoksin yang menginvasi sel epitel mukosa usus halus. Manifestasi klinik

infeksi oleh *E. coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Ismail, 2012).

2.4 Teknik Isolasi Mikroba

Teknik isolasi mikroba dilakukan bertujuan untuk menumbuhkan mikroorganisme di luar lingkungan alaminya. Isolasi mikroba memiliki prinsip yaitu memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain dari kultur campuran mikroba lain dengan tujuan untuk mendapatkan biakan murni. Hal ini dapat dilakukan dengan cara menumbuhkan mikroba pada media padat sehingga terbentuk koloni (Jufri, 2020).

2.5 Media Selektif

2.5.1 MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*)

MRS Agar atau *de Man Rogosa Sharpe agar* (MRSA) adalah medium kultur selektif sebagai pengganti media dari sari tomat yang digunakan untuk mengisolasi terhadap pertumbuhan melimpah dari Lactobacilli dan spesies bakteri lain dalam kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) (Corry *et al.*, 2003). Dengan adanya modifikasi dalam kandungan MRSA yaitu penurunan pH hingga 5,7 serta penambahan asam sorbat 0,14 % sehingga media ini dapat menyeleksi pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). media ini memiliki warna coklat jernih dan memiliki fungsi lain yaitu sebagai media perhitungan jumlah bakteri dan media yang menghasilkan bakteriosin (De Man *et al.*, 1960). Penggunaan media MRSA pada tahap isolasi bertujuan agar bakteri tumbuh dengan optimal dan mendapat koloni BAL yang diharapkan (Nadia *et al.*, 2020).

Kandungan media MRSA terdiri dari 1% pepton, 1% ekstrak daging sapi, 0,4% ekstrak ragi, 2,0% glukosa, 0,5% natrium asetat trihidrat, 0,1% polisorbat 80 (Tween 80), 0,2% dipotasium hidrogen fosfat (K_2HPO_4), 0,2% triamonium sitrat ($C_6H_{17}N_3O_7$), 0,02% magnesium sulfat heptahidrat, 0,005% mangan sulfat tetrahidrat, 1% agar, dengan disesuaikan pH menjadi 6,2 pada suhu 25 °C. Ekstrak ragi/daging dan pepton menyediakan sumber karbon, nitrogen, dan vitamin untuk pertumbuhan bakteri secara umum. Vitamin dan asam amino yang dibutuhkan oleh Lactobacilli terkandung dalam ekstrak ragi. Polisorbat 80 adalah surfaktan yang membantu penyerapan nutrisi oleh Lactobacilli. Magnesium sulfat dan mangan sulfat menyediakan kation yang digunakan dalam metabolisme (De Man *et al.*, 1960).

2.5.2 Media MRSB (*de Man Rogosa Sharpe Broth*)

MRS Broth adalah media pertumbuhan untuk kultivasi dan penghitungan Lactobacillus spp. yang diisolasi dari oral, tinja, dan sumber spesimen lainnya. Beberapa Lactobacillus dan Leuconostoc spp. menghasilkan gas. Media ini juga mendukung pertumbuhan yang baik untuk sejumlah strain bakteri asam laktat lain (Tille & Bailey, 2014). Kandungan dalam MRS Broth sama halnya dengan MRSA yaitu terdiri dari pepton dan dekstroza, tetapi tanpa ada tambahan agar. Kandungan bahan tersebut memasok nitrogen, karbon, dan elemen lain yang diperlukan untuk pertumbuhan. Polisorbat 80, asetat, magnesium, dan mangan menyediakan faktor pertumbuhan untuk membiakkan berbagai laktobasilus. MRS broth awalnya dikembangkan oleh de Man, Rogosa & Sharpe, digunakan untuk uji konfirmasi pada organisme yang diisolasi pada MRS Agar (De Man *et al.*, 1960). MRS broth digunakan untuk menentukan organisme dalam pembentukan gas selama

fermentasi glukosa. Kandungan media MRS broth terdiri dari bahan-bahan yang sama dengan MRSA, yaitu pepton, ekstrak daging, ekstrak ragi, D (+) – glukosa, dipotasium hidrogen fosfat, natrium asetat trihidrat, triammonium sitrat, magnesium sulfat heptahidrat, mangan sulfat tetrahidrat, pH akhir 6,2 +/- 0,2 pada suhu 25°C. Media MRS broth tanpa agar (Murray *et al.*, 2007). MRS Broth dapat digunakan untuk tes dalam identifikasi laktobasilus dengan memperhatikan suhu karena ketergantungannya terhadap suhu, pertumbuhan dalam 4% NaCl, pertumbuhan dalam 0,4% Teepol, dll seperti yang direkomendasikan oleh Sharpe, Fryer dan Smith (Sharpe & Smith, 1966).

2.6 Antimikroba

Mikroba atau mikroorganisme merupakan salah satu makhluk hidup yang dapat menyebabkan bahaya dan kerusakan bagi makhluk hidup lain seperti hewan dan tumbuhan. Hal tersebut dapat dilihat dari kemampuan mikroba dalam menginfeksi dan menimbulkan penyakit baik yang ringan maupun sampai pada kematian, sehingga manusia terus mencari bahan-bahan untuk mengatasi mikroba yang menimbulkan penyakit tersebut (antimikroba). Salah satu mikroba yang menyebabkan penyakit adalah bakteri (Pelczar & Chan, 2005). Antimikroba atau antimikrobia dapat diartikan sebagai suatu bahan yang dapat menghambat atau mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Istilah-istilah lain seperti antibakterial atau antifungal menyatakan penghambatan pertumbuhan dan metabolisme pada kelompok-kelompok mikroorganisme khusus (Pelczar & Chan, 2005). Antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) (Lay & Hastowo, 1992).

Aktivitas antimikroba dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor (Pelezar & Chan, 2005).

2.6.1 Sifat-Sifat Antimikroba

Beberapa sifat yang perlu dimiliki oleh zat antimikroba menurut Waluyo (2004) adalah sebagai berikut:

- a. Menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak hospes/inang, yaitu antimikroba dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan mikroba bahkan menghentikan pertumbuhan bakteri namun tidak berpengaruh pada hospes.
- b. Bersifat bakterisida dan bukan bakteriostatik, yaitu antimikroba baiknya bersifat bakterisida atau bersifat menghentikan laju pertumbuhan/membunuh mikroba bukan bakteriostatik yang hanya menghambat laju pertumbuhan mikroba.
- c. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman atau mikroba, yaitu antimikroba tidak akan menimbulkan kekebalan kepada mikroba sehingga antimikroba tidak dapat digunakan untuk menghentikan pertumbuhan mikroba patogen lagi.
- d. Berspektrum luas, yaitu antimikroba efektif digunakan untuk berbagai spesies bakteri, baik bakteri kokus, basil, dan spiral.
- e. Tidak menimbulkan alergenik atau efek samping bila digunakan dalam jangka waktu lama, yaitu antimikroba yang digunakan sebagai obat tidak menimbulkan efek samping kepada pemakai jika digunakan dalam jangka waktu lama.

- f. Zat antimikroba tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eskudat, antimikroba yang berada dalam plasma atau cairan tubuh tetap bersifat aktif dan tidak dalam keadaan berhenti tumbuh atau dormansi.
- g. Zat antimikroba dapat larut dalam air dan stabil, antimikroba dapat larut dan menyatu dalam air.

2.6.2 Mekanisme Kerja Zat Antimikroba

Berdasarkan beberapa ahli menyebutkan bahwa mekanisme kerja zat antimikroba mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam sel, yaitu:

1. Antimikroba menghambat metabolisme sel. Mikroba membutuhkan asam folat untuk bertahan hidup dan mempertahankan hidup. Mikroba patogen tidak memperoleh asam folat dari luar tubuh, sehingga mikroba harus mensintesis asam folat sendiri. Agen antimikroba mengganggu proses pembentukan asam folat, akibatnya asam folat dinonaktifkan dan metabolisme dalam sel mikroba terganggu (Setiabudi, 2007).
2. Antimikroba menghambat sintesis protein. Sebuah sel dapat hidup ketika molekul protein sel dan asam nukleat berada dalam keadaan alaminya. Denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel secara permanen (Pelczar & Chan 1988).
3. Antimikroba menghambat sintesis dinding sel. Bakteri dikelilingi oleh struktur yang kaku, seperti dinding sel, yang melindungi membran protoplasma di dalam sel. Senyawa antimikroba dapat merusak dan menghambat proses sintesis dinding sel sehingga menciptakan sel yang peka terhadap tekanan osmotik (Waluyo, 2004).

4. Antimikroba menghambat permeabilitas membran sel. Membran sel bertindak sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan transpor aktif dan mengatur organisasi di dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan nutrisi dalam sel dan lokasi di mana respirasi seluler dan aktivitas biosintesis seluler tertentu terjadi. Beberapa antimikroba dapat merusak fungsi membran sel, mempengaruhi kehidupan sel (Waluyo, 2004).
5. Antimikroba merusak asam nukleat dan protein. DNA, RNA dan protein berperan penting dalam proses kehidupan sel. Hambatan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel secara total (Pleczar & Chan, 1988).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Penelitian Kualitatif meliputi pengamatan mikroskopis, makroskopis, dan uji biokimia dari masing-masing isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari air cucian beras. Sedangkan pengujian kualitatif dengan menguji isolat BAL yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan mengukur zona hambat yang terbentuk.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – April 2023 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas ialah variabel yang menjadi alasan timbulnya perubahan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu jenis genus BAL dari air cucian beras.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat ialah variabel yang menjadi dampak adanya variabel bebas. Variabel terikat penelitian ini yakni pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis, uji biokimia bakteri asam laktat, dan zona hambat yang diperoleh dari aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini yakni media penanaman. Isolat bakteri pada air cucian beras ditanamkan dalam media MRS (*De Mann rogosa shape*), dan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan media penanaman NA (*Nutrient Agar*) dengan suhu inkubasi 37°C.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas ukur, *beaker glass*, bunsen, botol kaca, cawan petri, mikropipet, *blue tip*, pinset, erlenmeyer, jarum ose, *magnet stirrer*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, sendok, inkubator, *shaker* inkubator, neraca analitik, autoklaf, LAF (*Laminar Air Flow*), *hot plate*, lemari es, *vortex*, *object glass*, termometer, mikroskop optik.

3.4.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain air cucian beras, isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, aquades steril, spirtus, NaCl 0,9%, *pepton water* 1%, kalsium karbonat (CaCO₃), barium klorida (BaCl₂), asam sulfat (H₂SO₄), alkohol 70%, kertas cakram, aluminium foil, wrap,

kantong plastik, kertas label, kapas, *tissue*, pewarnaan Gram (Larutan kristal violet, iodium, etanol 96%, safranin, *malachite green*, dan H₂O₂), *paper disc*, *cotton swab*, media MRSA (*De Mann Rogosa Shape Agar*), media MRSB (*De Mann Rogosa Shape Broth*), dan media NA (*Nutrient Agar*).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang hendak digunakan dan tahan panas disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilkan menggunakan alkohol 70%, semua kegiatan dilakukan didalam *Laminary Air Flow*.

3.5.2 Pembuatan Media

a. Media MRSA dan MRSB

Media MRSA ditimbang sebanyak 6,82 gram dilarutkan dengan 100 mL aquades. Sedangkan media MRSB ditimbang sebanyak 5,51 gram dilarutkan dengan 100 mL aquades. Setiap media ditutup dengan kapas dan kasa, kemudian diletakkan di atas *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Ismail dkk, 2017).

b. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 2 gram dilarutkan dengan 100 mL aquades. Setiap media ditutup dengan kapas dan kasa, kemudian diletakkan di atas *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dan

disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Ismail dkk, 2017).

3.5.3 Isolasi BAL dari Fermentasi Air Cucian Beras

Sampel beras ditimbang sebanyak 150 gram dicuci dengan 200 mL air bersih, kemudian air cucian beras tersebut dimasukkan ke dalam botol kaca sekitar 2/3 dari volume botol. Setelah itu mulut botol ditutup dengan kain steril dan diwrap. Sampel air cucian beras didiamkan selama tiga hari, disimpan pada suhu ruangan dan terhindar dari cahaya langsung (Elfarisna dkk, 2014). Setelah proses fermentasi, diambil sampel air cucian beras tersebut sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam 9 mL *pepton water* 1%. Kemudian dilakukan homogenisasi menggunakan *vortex* hingga larutan sampel homogen. (Suhartatik *et al.*, 2014). Kemudian suspensi yang diperoleh (pengenceran 10^{-1}) diencerkan dengan metode pengenceran bertingkat hingga 10^{-7} dengan cara mengambil 1 mL dari hasil pengenceran sebelumnya kemudian ditambahkan kedalam 9 mL *pepton water* 1%. Hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} diambil sebanyak 100 μ L dan dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dengan metode *spread plate*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Amaliah dkk, 2018). . Pengenceran bertingkat dilakukan untuk meminimalkan atau memperkecil jumlah bakteri yang tersuspensi dalam cairan (Nurdiansyah *et al.*, 2021). Penambahan CaCO_3 pada media MRSA digunakan sebagai indikator koloni bakteri yang mampu menghasilkan asam, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (Subagiyo dkk., 2016).

3.5.4 Pemurnian Isolat BAL dari Fermentasi Air Cucian Beras

Koloni tunggal dimurnikan dengan metode goresan *quadrant streak* kemudian diseleksi berdasarkan bentuk koloni, sifat Gram positif, katalase negatif, dan bentuk morfologi. Isolat diinokulasikan kedalam media MRSA dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Nurhayati dkk, 2011). Purifikasi atau pemurnian dilakukan bertujuan agar memperoleh bakteri yang murni (Pamaya dkk, 2018).

3.5.5 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Air Cucian Beras

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan mengidentifikasi morfologi BAL dengan tiga cara yaitu pengamatan mikroskopis (warna, bentuk, dan ukuran koloni BAL yang tumbuh pada medium MRSA), pengamatan makroskopis (Pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora), dan uji biokimia (Uji katalase dan uji tipe fermentasi) (Amaliah dkk, 2018).

3.5.5.1 Pengamatan Makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara melihat langsung isolat bakteri yang tumbuh pada media. Pengamatan karakteristik koloni bakteri asam laktat meliputi bentuk koloni, bentuk tepi, warna, dan bentuk permukaan (Prastujati *et al.*, 2022). Koloni tersebut selanjutnya dimurnikan dengan metode goresan *quadrant streak* pada media MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian dilakukan subkultur koloni tunggal yang diperoleh pada media MRSA miring yang digunakan sebagai stok isolat untuk tahap selanjutnya. Masing-masing isolat diidentifikasi karakter fisiologisnya menggunakan uji pewarnaan Gram dan uji endospora (Ismail dkk, 2017).

3.5.5.2 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis BAL dilakukan dengan cara mengamati karakteristik morfologi hasil uji pewarnaan Gram dan uji endospora sebagai berikut (Prastujati *et al.*, 2022):

1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara membuat apusan pada *object glass* terlebih dahulu. Object glass dibersihkan menggunakan alkohol 70% lalu diseka dengan tisu. Object glass ditetesi aquades steril sebanyak 1-2 tetes. Jarum ose dipanaskan diatas api bunsen kemudian diambil isolat BAL yang ditumbuhkan pada media MRSA sebanyak satu ose lalu digoreskan pada *object glass* dan difiksasi diatas api bunsen sekitar 5 detik (Yulvizar, 2015). Apusan yang telah dibuat, ditetesi larutan kristal violet dan didiamkan selama 10-60 detik lalu dibilas dengan air. Pembilasan dengan air dilakukan bertujuan untuk menghilangkan sisa larutan tanpa menghilangkan apusan. Selanjutnya ditetesi larutan iodium dan didiamkan selama 10-60 detik lalu dibilas dengan air (Tripathi & Sapra, 2020). Ditetesi alkohol 96% dan didiamkan selama 30 detik (Fevria & Hartanto, 2019). Selanjutnya preparat ditetesi safranin dan dibiarkan selama 60 detik, kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan lalu diamati dengan menggunakan mikroskop (Yulvizar, 2015). Sel bakteri yang termasuk Gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan sel bakteri yang termasuk Gram negatif akan menunjukkan warna merah (Sari, 2012). Bakteri asam laktat termasuk bakteri Gram positif karena tidak mengalami dekolorisasi maka akan tetap mengikat warna ungu dari larutan kristal violet hingga akhir pewarnaan (Wibowo, 2012).

2. Uji Endospora

Pewarnaan endospora pada kultur BAL dilakukan dengan cara membersihkan preparat yang telah disterilkan terlebih dahulu menggunakan 2 tetes aquades steril. Jarum ose dipanaskan diatas api bunsen terlebih dahulu kemudian diambil kultur bakteri yang berumur 24 jam sebanyak satu ose lalu digoreskan pada *object glass* dan difiksasi diatas api bunsen sekitar 5 detik. Selanjutnya, isolat BAL pada *object glass* ditetesi *malachite green* dan diuapkan diatas api bunsen selama 1 menit, lalu dibilas dengan aquades. Preparat ditetesi safranin lalu didiamkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan, lalu diamati dengan menggunakan mikroskop (Amaliah dkk, 2018). Uji positif jika endospora berwarna hijau dan sel vegetatif berwarna merah (Harley, 2005).

3.5.5.3 Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat

Uji biokimia BAL meliputi beberapa uji sebagai berikut:

1. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan jarum ose lalu digoreskan atau difiksasi pada *object glass*. Ditetesi larutan H₂O₂ 3% sebanyak 1-2 tetes menggunakan pipet, lalu diamati adanya gelembung atau tidak (Ramadhanti *et al.*, 2021). Jika terbentuk gelembung yang mengindikasikan bahwa uji katalase positif dan jika tidak terbentuk gelembung mengindikasikan bahwa uji katalase negatif (Amaliah dkk, 2018). Terbentuknya gelembung-gelembung menunjukkan bahwa organisme tersebut menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan oksigen (Yulvizar, 2015). BAL termasuk bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase

yang dapat memecah H_2O_2 sehingga tidak terbentuk gelembung-gelembung oksigen (Romadhon dkk, 2012). Identifikasi dilakukan lebih lanjut hanya pada isolat yang menunjukkan hasil pewarnaan Gram positif dan katalase negatif karena kedua hasil tersebut merupakan sifat umum BAL (Muzaifa, 2014).

2. Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi dilakukan dengan cara memasukkan isolat bakteri ke dalam 10 ml MRSB dalam tabung reaksi. Dimasukkan tabung durham ke dalam tabung reaksi yang telah berisi isolat bakteri dengan posisi terbalik. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat terbentuknya gelembung udara yang terdapat pada tabung durham (Ramadhanti *et al.*, 2021). Isolat yang menghasilkan gelembung udara termasuk bakteri heterofermentatif, sedangkan isolat yang tidak menghasilkan gelembung udara termasuk bakteri homofermentatif (Romadhon dkk, 2012).

3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.5.6.1 Pembuatan Larutan Standart McFarland

Larutan standar McFarland digunakan untuk menyetarakan perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan kepekatan suspensi uji. Larutan standar 0,5 McFarland dibuat terdiri dari 0,05 ml $BaCl_2$ 1% dan 9,95 ml H_2SO_4 1%. Standar 0,5 McFarland merupakan standar yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi, dimana standar tersebut adalah dasar percobaan kerentanan antimikroba dan percobaan hasil biakan bakteri (Aviany & Pujiyanto,

2020). Standar 0,5 McFarland merupakan standar yang setara dengan jumlah suspensi bakteri 1×10^8 CFU/ml (Hudzicki, 2009).

3.5.6.2 Pembuatan Bakteri Uji

Biakan murni bakteri uji diremajakan pada media agar padat dengan cara mengambil bakteri sebanyak 1 ose yang mengandung *S. aureus* dan *E. coli* lalu digoreskan pada media NA dilakukan dengan aseptis. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Ngajow dkk, 2013). Uji difusi cakram berdasarkan metode Kirby-Bauer bakteri uji disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% hingga kepadatan setara dengan standar 0,5 McFarland (Bubonja-Sonje *et al.*, 2020). Jika suspensi bakteri terlihat lebih jernih dari standar 0,5 McFarland maka perlu ditambahkan isolat bakteri lagi. Begitu pula jika suspensi bakteri terlihat lebih padat dari standar 0,5 McFarland maka perlu ditambahkan larutan NaCl 0,9% hingga tingkat kepadatan sesuai (Hudzicki, 2009).

3.5.6.3 Uji Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

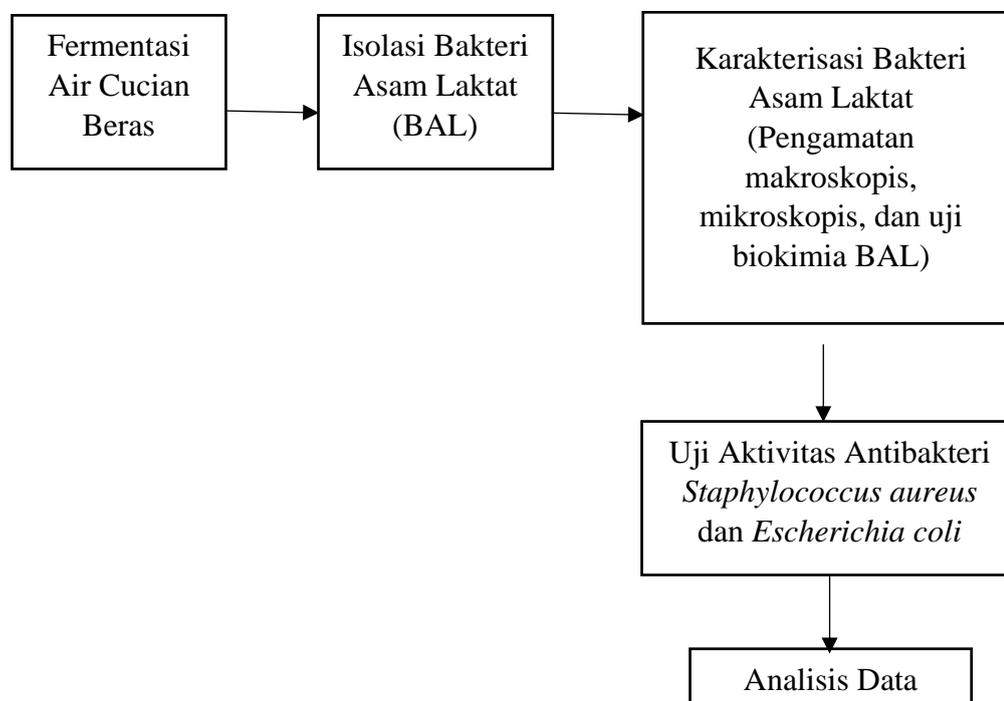
Uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan media NA. Pengujian dilakukan dengan cara merendam kertas cakram berdiameter 6 mm pada tiap larutan isolat BAL dan kontrol negatif menggunakan aquades steril selama kurang lebih 15 menit (Kasi & Mutmainnah, 2017). Bakteri patogen yang sudah sesuai dengan standar 0,5 McFarland masing-masing disebar menggunakan metode swab. Metode swab dengan menggunakan *cotton swab* steril yang telah dicelupkan larutan bakteri patogen lalu diusapkan pada seluruh permukaan agar (Aviany & Pujiyanto, 2020). Kertas cakram yang telah direndam isolat BAL diletakkan pada media NA yang telah diinokulasikan

bakteri patogen, masing-masing dibuat 2 kali ulangan pada satu cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Kasi & Mutmainnah, 2017). Kontrol positif menggunakan 10 mg streptomisin (Sofyan *et al.*, 2013). Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram merupakan zona penghambatan BAL terhadap bakteri patogen. Diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong (Scheved, 1993).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil identifikasi disajikan berupa kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif antara lain pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis, dan juga uji biokimia. Sedangkan kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran zona hambat disekitar kertas cakram.

3.7 Alur Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras

Berdasarkan hasil purifikasi yang telah dilakukan didapatkan 3 isolat berbeda yang diisolasi dari fermentasi air cucian beras. Hasil pengamatan secara makroskopis isolat bakteri asam laktat disajikan pada tabel 4.1 berikut:

Tabel 4.1 Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras

Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Diameter (mm)
AL 1	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,50
AL 2	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,31
AL 3	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,22

Keterangan: AL: Air Leri

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 4.1 ditemukan tiga isolat yang memiliki bentuk, warna, tepi, dan permukaan koloni yang sama, yaitu berbentuk bulat, berwarna putih susu, tepi rata, dan bentuk permukaan yang cembung. Menurut Prastujati *et al.* (2022) pengamatan makroskopis pada koloni bakteri yang memiliki bentuk koloni bulat dengan warna putih hingga putih kekuningan yang diduga merupakan kelompok bakteri asam laktat. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Nadia *et al.* (2020) bahwa karakterisasi makroskopik koloni bakteri yang memiliki bentuk bulat dengan warna putih susu dan diameter sekitar 1-2 mm termasuk ciri-ciri bakteri asam laktat secara makroskopik. Menurut Sitepu dkk (2021) BAL dapat

ditemukan pada fermentasi air cucian beras dengan karakteristik koloni berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan.

Al-Quran merupakan kitab Allah SWT. yang dapat memberikan petunjuk kepada manusia agar menggunakan akal dan pikirannya untuk mengobservasi pentingnya lingkungan sekitar sehingga dapat mengembangkan ilmu pengetahuan yang selaras dengan Al-Quran. Lingkungan memiliki pengaruh yang sangat penting yang berkaitan dengan kehidupan makhluk lain. Al Quran menegaskan bahwa tidak ada yang sia-sia mengenai segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT. segalanya seimbang dalam berbagai bentuk yang besar maupun kecil di bumi. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam Surat al-Mulk ayat 3:

﴿الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمٰنِ مِن تَفَٰوُتٍ ۗ فَارْجِعِ الْبَصَرَ ۖ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ۗ ۝۳﴾

Artinya: Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu melihat suatu keretakan?

Menurut Shihab (2003) ayat tersebut menjelaskan segala ciptaan Allah SWT. yang serasi dan akurat dengan melihat salah satunya pada langit yang diciptakan tujuh lapis. Segala sesuatunya telah diciptakan dengan seimbang sesuai dengan fungsi masing-masing. Keseimbangan tidak terus menerus mengenai hal yang bentuk maupun sifatnya sama, namun bisa saja seperti ukuran yang berbeda seperti makhluk hidup berukuran besar maupun kecil. Allah menciptakan berbagai bentuk makhluk dengan ukuran besar yang dapat dilihat secara langsung maupun makhluk yang kecil sekalipun seperti mikroba pastinya sudah sesuai kadarNya. Keberadaan mikroba ada yang secara langsung bisa terlihat dan ada yang dengan bantuan alat seperti mikroskop. Hal tersebut dikarenakan variasi ukuran pada tiap

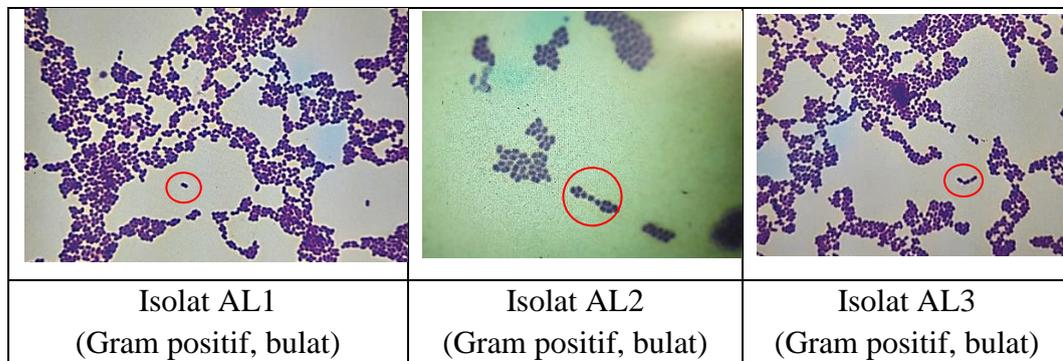
jenis mikroba yang perlu diketahui dan dipelajari agar dapat dimanfaatkan dengan baik.

Identifikasi pada mikroba dilakukan dengan dua metode yaitu metode Mikroskopis dan makroskopis. Karakter Mikroskopis dapat dijelaskan sebagai koloni bakteri yang memerlukan alat bantu dalam melihat dengan jelas keberadaannya dan siklus hidupnya, pengamatannya dilakukan dengan cara pewarnaan gram, bentuk sel bakteri, uji katalase dan lainnya yang dilakukan di bawah mikroskop. Sedangkan makroskopis yaitu langsung dengan pengenalan morfologi koloni bakteri seperti diamati warna, bentuk, tekstur dan permukaan bakteri (Dwijoseputro,2003). Alam ini dan ilmu pengetahuan Allah SWT begitu luas. Oleh karena itu, dalam memandang ciptaan Allah SWT kita diperintahkan supaya memandang berkali-kali sebelum menilai atau menyimpulkan, kemudian memahami betapa sangat adilnya Allah dalam segala penciptaanNya. Dari sini dapat diambil hikmah, bahwa memang bentuk kekuasaan Allah SWT ada juga yang tidak bisa terlihat oleh pandangan mata manusia biasa. Akan tetapi, Maha besar Allah, kita sebagai hambaNya harus mampu mengimani bentuk kekuasaan Allah SWT (Shibab, 2003).

4.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah metode pewarnaan yang digunakan untuk menggolongkan bakteri ke dalam dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif (Fitrah dkk, 2017). Sel-sel bakteri Gram negatif akan melepaskan pewarna kristal violet dan berubah berwarna merah karena mengikat pewarna safranin.

Sedangkan sel-sel bakteri Gram positif mempertahankan pewarna kristal violet dan menjadi warna ungu (Fardiaz, 1989).



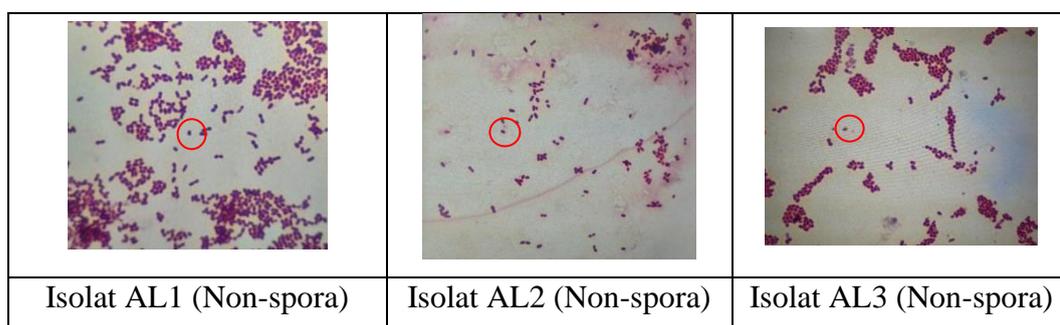
Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat pada Air cucian Beras

Berdasarkan pengamatan hasil pewarnaan Gram, ketiga isolat bakteri memiliki ciri sel berbentuk bulat dan berwarna ungu. Sel bakteri yang berwarna ungu setelah dilakukan uji pewarnaan Gram tergolong bakteri Gram positif. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Nadia *et al.* (2020) bahwa salah satu ciri bakteri Gram positif yaitu sel bakteri berwarna ungu. Bakteri Gram positif memiliki ciri-ciri dinding sel dengan peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif sehingga dapat menyerap warna dari pewarna crystal violet. Pewarna yang terserap oleh sel akan bertahan meskipun dilakukan pencucian yang bertujuan untuk menghilangkan pewarna pertama. Menurut Panawala (2017) dinding sel bakteri Gram positif memiliki ketebalan 20-80 nm.

4.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan spora memerlukan pemanasan agar zat warna dapat meresap ke dalam spora (Lay, 1994). Proses pewarnaan endospora menggunakan zat warna *malachite green*. Selama proses pewarnaan endospora, bakteri berspora akan tetap mengikat zat warna *malachite green* meskipun telah dilakukan pencucian dan

diberikan pewarna kedua yaitu larutan safranin. Sehingga bakteri yang berspora akan berwarna hijau-biru dan bakteri non-spora (sel vegetatif) akan berwarna merah (Sunatmo, 2007). Kedua zat warna tersebut tidak berikatan erat dengan dinding sel dan sitoplasma sehingga mudah terlepas saat pencucian dengan air. Sebaliknya, air tidak dapat menembus dinding endospora sehingga spora tetap berwarna hijau saat pencucian dengan air (Lay, 1994).

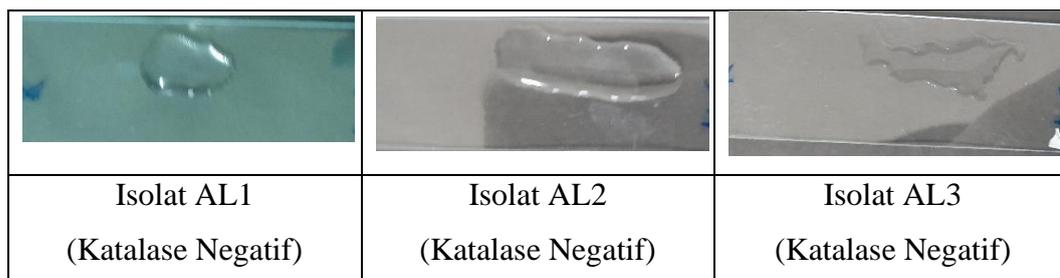


Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Endospora Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras

Hasil pengamatan pewarnaan endospora terhadap ketiga isolat bakteri memiliki karakteristik non-spora atau tidak memiliki spora. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut memiliki salah satu ciri dari kelompok bakteri asam laktat. Menurut Othman *et al.* (2017) bakteri asam laktat adalah bakteri Gram positif non-spora yang menghasilkan berbagai asam organik seperti asam asetat dan asam laktat melalui metabolisme fermentasi karbohidrat. Menurut Laily dkk (2013) pewarnaan endospora pada isolat BAL menggunakan malachite green menunjukkan bahwa isolat BAL berwarna merah yang berarti tidak memiliki spora (spora negatif).

4.4 Uji Katalase

Uji katalase pada isolat bakteri bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki enzim katalase untuk memproduksi efek toksik H_2O_2 (Suryani dkk, 2010).

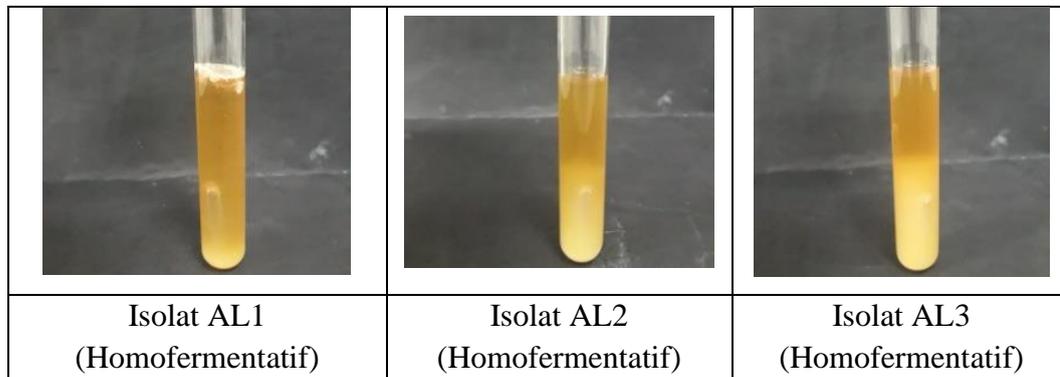


Gambar 4.3 Hasil Uji Katalase Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras

Berdasarkan pengamatan hasil uji katalase menunjukkan bahwa 3 isolat yang ditemukan termasuk katalase negatif karena tidak terbentuk gelembung setelah diberi larutan H_2O_2 . Reaksi katalase negatif ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung yang berarti tidak terbentuknya gas oksigen akibat pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri (Ramadhanti *et al.*, 2021). Menurut Fallo dkk (2021) Enzim katalase mampu mengkatalisis langsung konversi hidrogen peroksida yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Nadia *et al.* (2020) bahwa bakteri asam laktat bersifat katalase negatif dikarenakan bakteri asam laktat tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hal ini berkaitan dengan kemampuan bakteri asam laktat yang hanya membutuhkan sedikit oksigen untuk hidup. Sedangkan menurut Mahulette *et al.*, (2016) bakteri yang bersifat katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung setelah pemberian larutan H_2O_2 3%.

4.5 Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi bertujuan untuk mengetahui isolat BAL yang diperoleh bersifat homofermentatif atau heterofermentatif (Nadia *et al.*, 2020).



Gambar 4.4 Hasil Pengamatan Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat pada Air Cucian Beras

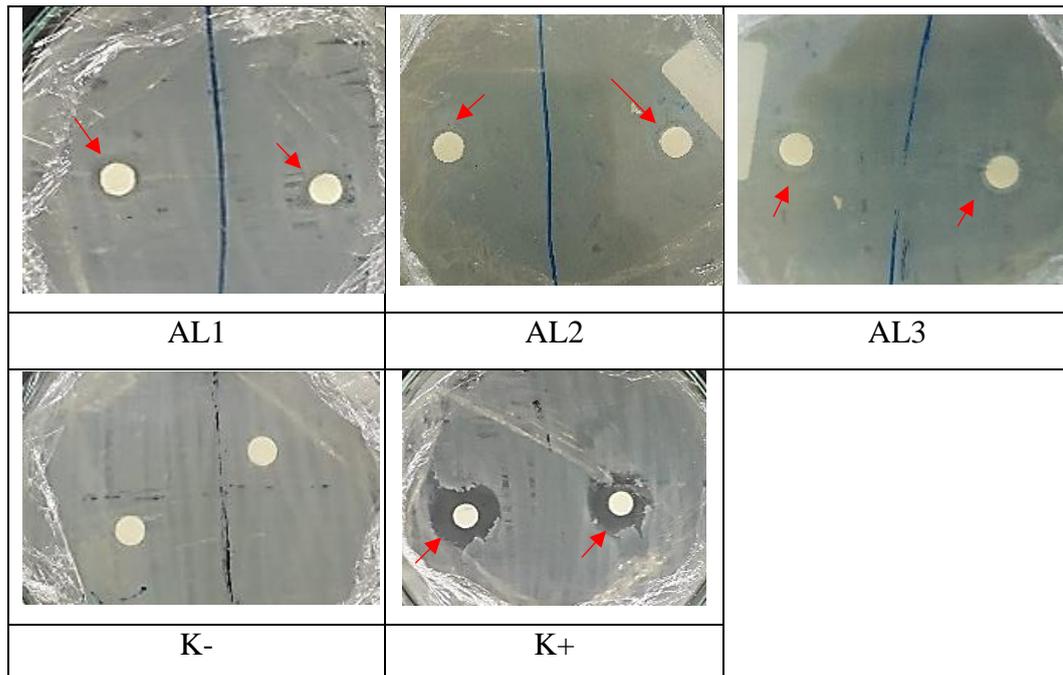
Pengamatan dilakukan setelah sampel uji tipe fermentasi diinkubasi selama 48 jam dan ketiga isolat memiliki tipe fermentasi homofermentatif karena tidak terbentuk gelembung pada tabung durham. Hal ini dibenarkan oleh pernyataan Nadia *et al.* (2020) bahwa bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif tidak menghasilkan gas atau gelembung. Sedangkan bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif menghasilkan gas CO₂, asam, alkohol, dan senyawa lainnya yang menguap.

Berdasarkan pengamatan isolat bakteri yang telah dilakukan secara makroskopis, mikroskopis dan juga uji biokimia diperoleh 3 isolat yang memiliki karakteristik seperti bakteri asam laktat sehingga dapat dikarakterisasi hingga tingkat genus. Isolat AL1, AL2, dan AL3 yang didapatkan dari fermentasi air cucian beras memiliki karakteristik betuk sel bulat, Gram positif, tidak berspora, dan katalase negatif, tipe fermentasi homofermentatif sehingga diduga termasuk dalam

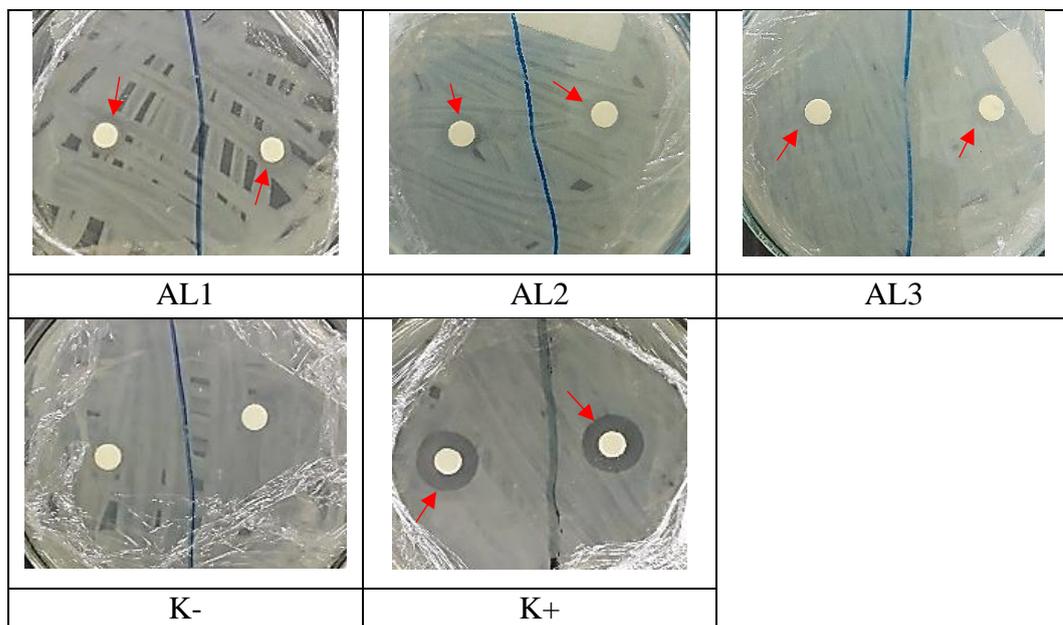
genus *Streptococcus*. Menurut Indriyati (2010) dalam penelitiannya tentang isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari susu formula balita bahwa bakteri asam laktat dari genus *Streptococcus* memiliki ciri sel bakteri berbentuk *coccus*, termasuk Gram positif, tidak berspora, katalase negatif, non-motil, dan memiliki tipe fermentasi homofermentatif. Hal ini juga diperkuat dengan karakterisasi dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* bahwa karakteristik bakteri asam laktat dari genus *Streptococcus* yaitu memiliki sel berbentuk bulat jarang yang berbentuk batang, Gram positif, tidak berspora, tidak menghasilkan enzim katalase atau katalase negatif, saat difermentasi menghasilkan asam laktat (homofermentatif) dan hidup di lingkungan yang mengandung karbohidrat (Holt, 1994).

4.6 Uji Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia terhadap kelima isolat termasuk Gram positif yang memiliki bentuk sel bulat, endospora negatif, 3 isolat katalase negatif dan memiliki tipe fermentasi homofermentatif, sedangkan 2 isolat lainnya termasuk katalase positif dan memiliki tipe fermentasi heterofermentatif. Uji selanjutnya ialah uji aktivitas antibakteri 3 isolat yang diduga kelompok bakteri asam laktat dari fermentasi air cucian beras terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode cakram.



Gambar 4.5 Zona hambat pada uji antibakteri bal dari air cucian beras terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.6 Zona hambat pada uji antibakteri bal dari air cucian beras terhadap bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan pengamatan hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram menandakan bahwa

isolat bakteri asam laktat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang mampu memfermentasikan gula menjadi asam laktat dalam usus besar dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba patogenik dan mikroba pembusuk sehingga keseimbangan mikroflora alami dalam usus akan selalu terjaga (Putra, 2015). BAL bermanfaat bagi sistem kekebalan usus dapat mencegah dan juga dapat mengobati diare (Cui *et al.*, 2011). Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat Ali Imran ayat 190-191 yang berbunyi:

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

Artinya: *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190). (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam 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 kami dari siksa neraka” (191).*

AL-Misbah telah menjelaskan dalam tafsirnya bahwa penciptaan langit dan bumi dengan kesempurnaan dan ketepatan perbedaan antara siang dan malam, cahaya dan kegelapan, rentang panjang dan pendeknya waktu, merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah yang jelas bagi para ulul albab (orang-orang yang berakal) yang mengetahui keesaan dan kekuasaan Tuhan. Telah menjadi ciri ulul albab bahwa mereka selalu merenungkan keagungan dan kebesaran Allah dalam hati dimana pun mereka berada, dalam keadaan duduk, berdiri dan baring. Mereka selalu merenungkan penciptaan langit dan bumi, dan keunikan yang terkandung didalamnya sambil berkata, “Tuhanku, tidak Engkau ciptakan jagat ini tanpa ada

hikmah yang telah Engkau tentukan dibalik itu. Engkau tersucikan dari sifat-sifat serba kurang, bahkan ciptaan-Mu itu sendiri adalah bukti kekuasaan dan hikmah-Mu. Hindarkanlah kami dari siksa neraka, dan berilah kami taufik untuk menaati segala perintah-Mu”.

Semua ini menjadi bukti atas kesempurnaan kekuasaan Allah bahwa segala sesuatu yang diciptakan-Nya itu tidak ada yang sia-sia bahkan selalu ada hikmah atau manfaatnya. Salah satunya yaitu air cucian beras yang pada umumnya menjadi limbah rumah tangga namun masih dapat dimanfaatkan bagi kesehatan tubuh. Manfaat yang diperoleh manusia sebagai hasil dari fermentasi air cucian beras oleh proses pertumbuhan dari bakteri asam laktat sangat penting terutama dalam proses metabolisme tubuhnya. Menurut Sitepu dkk. (2021) air cucian beras yang telah sehari-hari akan terfermentasi sehingga tumbuh berbagai jenis mikroba, terutama jenis bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat sebagai pemicu proses terjadinya fermentasi di air cucian beras yang mana bakteri ini berperan penting dalam hal mencegah dan mengurangi bakteri patogen.

Bakteri asam laktat diketahui memiliki banyak kegunaan, antara lain sebagai antibiotik, pengawet makanan, kultur fermentasi dan probiotik makanan, karena kemampuan bakteri ini untuk melawan mikroorganisme patogen dan pembusukan makanan. Senyawa yang terlibat dalam kegiatan ini adalah bakteriosin sebagai salah satu metabolit bakteri (Januarsyah, 2007). Penggunaan BAL didasarkan pada fakta bahwa bakteri asam laktat disebut *food grade microorganism* yakni mikroba yang tidak berbahaya bagi kesehatan melainkan dapat menyehatkan tubuh, karena tidak menghasilkan racun berbahaya dalam bahan makanan. Karena pada umumnya bakteri asam laktat dapat menghambat mikroba patogen (Delvia

dkk, 2015). Penelitian terdahulu sudah banyak yang melakukan uji antibakteri BAL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, salah satunya pada penelitian Hamidah dkk (2019) yang mana BAL menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Berikut merupakan kategori zona hambat menurut Davis & Stout (1971):

Tabel 4.2 Kategori Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Kategori Zona Hambat
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
> 20 mm	Sangat Kuat

Tabel 4.3 Hasil pengukuran zona hambat isolat bal dari air cucian beras pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

a. Hasil pengukuran zona hambat *S. aureus*

Kode Isolat	Ulangan	Zona Hambat (mm)	Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori Zona Hambat
K-	1	0	0	0	Tidak ada
	2	0			
AL1	1	2,66	5,28	2,64	Lemah
	2	2,62			
AL2	1	1,88	4,2	2,1	Lemah
	2	2,32			
AL3	1	4,93	10,11	5,055	Sedang
	2	5,18			
K+	1	12,04	23,19	11,595	Kuat
	2	11,15			

Keterangan: K-: Aquades steril, K+: *Streptomycin*

b. Hasil pengukuran zona hambat *E.coli*

Kode Isolat	Ulangan	Zona Hambat (mm)	Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori Zona Hambat
K-	1	0	0	0	Tidak ada
	2	0			
AL1	1	2,69	5,56	2,78	Lemah
	2	2,87			
AL2	1	4,59	9,02	4,51	Lemah
	2	4,43			
AL3	1	5,07	10,22	5,11	Sedang
	2	5,15			
K+	1	10,87	21,23	10,615	Kuat
	2	10,36			

Keterangan: K-: Aquades steril, K+: *Streptomycin*

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong pada aktivitas antibakteri BAL terhadap *S. aureus* dan *E. coli* didapatkan hasil rerata pada tabel 4.7 yang menunjukkan bahwa isolat AL1 dan AL2 termasuk kategori zona hambat yang lemah karena memiliki diameter zona hambat <5 mm, isolat AL3 kategori sedang karena memiliki diameter zona hambat >5 mm, dan kontrol positif yang menggunakan antibiotik jenis *streptomycin* termasuk kategori kuat karena memiliki diameter zona hambat >10 mm seperti yang telah ditunjukkan pada tabel 4.6. Hasil ini menunjukkan bahwa *streptomycin* lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri patogen. Hal ini dikarenakan *streptomycin* adalah obat antibiotik yang menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Menurut Etebu (2016) mekanisme kerja antibiotik dengan cara merusak struktur membran sel, menghambat dinding sel, menghambat struktur dan fungsi asam nukleat dan juga menghambat sintesis protein.

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri BAL terhadap *S. aureus* dan *E. coli* terdapat perbedaan pada diameter zona hambat yang dihasilkan. Diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* rata-rata lebih kecil dari zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *E. coli*. Menurut Pelczar (2009) Semakin besar zona

hambat yang terbentuk maka semakin besar pula kemampuan BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Yulinery & Nurhidayat (2015) rendahnya zona hambat yang terbentuk dapat disebabkan karena bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki dinding sel yang lebih tebal sehingga senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL lebih sulit untuk menembus dinding sel bakteri Gram positif. Menurut Khikmah (2015) kecilnya kemampuan zona hambat isolat BAL terhadap bakteri Gram positif dikarenakan kelompok bakteri Gram positif tahan terhadap kondisi asam.

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti produksi antibiotik, bakteriosin (senyawa protein yang memiliki efek bakterisida terhadap zona bening mikroorganisme lain), lisosom, protease dan hidrogen peroksida atau bahkan asam organik yang dihasilkan dapat mempengaruhi pH media (Elifah, 2010). Mekanisme kerja bakteriosin ialah merusak permeabilitas sel membran sitoplasma bakteri dengan membentuk pori-pori pada sel membran dan menghilangkan gaya gerak proton. BAL juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Asam laktat yang dihasilkan BAL memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri patogen sehingga pH menurun menjadi 3-4,5 (Sablou *et al.*, 2000).

Metode difusi cakram untuk menguji aktivitas antimikroba dari produk alami semakin populer karena kemudahan penggunaan dan biaya rendah. Namun, ini melibatkan sejumlah langkah kritis, seperti pemilihan media, pH, ketebalan agar dan kadar air, kondisi inkubasi, dan memastikan kerapatan inokulum yang akurat. Diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh kelarutan zat yang diuji, rentang difusi, dan penguapan (King *et al.*, 2008). Ukuran diameter zona hambat akan

bergantung pada laju difusi larutan uji dan derajat kepekaan mikroorganismenya. Besarnya zona hambat pada uji difusi cakram berkorelasi terbalik dengan konsentrasi hambat minimum (Matuschek *et al.*, 2014).

Pengendapan zat yang tidak larut air dalam cakram akan mencegah difusi zat antimikroba ke dalam agar. Dengan campuran konstituen dengan tingkat difusi yang berbeda, dapat memberikan hasil yang kurang dapat dipercaya. Faktanya, tidak adanya zona hambat bukan berarti bahwa senyawa yang diuji tidak efektif. Namun hal ini terjadi karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibiotik pada media agar, jenis dan konsentrasi senyawa antibiotik dari metabolit sekunder yang dihasilkan (Bubonja-Sonje *et al.*, 2011).

Kelemahan utama dari uji ini adalah kualitatif dan tidak membedakan antara efek bakterisidal dan bakteriostatik. Ketika digunakan untuk skrining antimikroba, *disc-diffusion* lebih baik untuk senyawa dengan berat molekul rendah, sedangkan untuk senyawa dengan berat molekul tinggi lebih disukai menggunakan *well-diffusion* (Valgas *et al.*, 2007).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia diperoleh 3 isolat bakteri dari air cucian beras yang memiliki ciri-ciri kelompok bakteri asam laktat. Hasil pengamatan menunjukkan terdapat 3 isolat yang memiliki bentuk sel bulat, Gram positif, endospora negatif, serta katalase negatif, dan memiliki tipe fermentasi homofermentatif sehingga dikategorikan dalam kelompok bakteri asam laktat genus *Streptococcus*.
2. Isolat bakteri asam laktat dari air cucian beras berpotensi sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada hasil uji antibakteri.

5.2 Saran

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

1. Penelitian ini perlu ditingkatkan lagi dengan mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat yang diperoleh hingga ke tahap spesies.
2. Penelitian ini perlu ditingkatkan lagi pada tahap pemurnian dan karakterisasi terhadap 3 isolat bakteri asam laktat dari air cucian beras supaya menghasilkan zona hambat yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abror, M. (2018). The Effect of Rice Washing Water and Lactobacillus Bacteria on the Growth and Production of Mustard Plants. *Nabatia*. 15 (2): 93-97.
- Adlin, Irman Ansari, Elyzabeth Winda Rusmana, & Sheila Fathona. (2019). Effect Of Chloride Acid Concentrate, Yeast Composition And Fermentation Time In Making Bioethanol From Rice Washing Water. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*. 3(2).
- Akib, Muh. Akhsan, Henny Setiawaty, Haniarti, & Sulfiah. (2014). Improving the Quality of “Leri” Rice Washing Waste by Different Period of Fermentation and Yeast Concentration as an Alternative Liquid Organic Fertilizer. *International Journal of Agriculture System (IJAS)*. 2(2).
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 5(1): 253-257.
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis. *Berkala Bioteknologi*. 3(2).
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, Abram M. (2011). Antioxidant and Antilisterial Activity of Olive Oil, Cocoa and Rosemary Extract Polyphenols. *Food Chem*. 127:1821–7.
- Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., & Abram, M. (2020). Challenges to Antimicrobial Susceptibility Testing of Plantderived Polyphenolic Compounds. *Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju*. 71(4). 300-311.
- Corry, J. E. L., Curtis, G. D. W., & Baird, R. M. (2003). Hektoen enteric (HE) agar. *Progress in Industrial Microbiology*, 37, 481-483.
- Cotter, P.D. & Hill, C. (2003). Surviving The Acid Test: Responses of Gram-positive Bacteria to Low pH. *Microbiology Molecular Biology*. 67: 429-453.
- Cui, F.; Li, Y.;Wan, C. (2011). Lactic Acid Production From Corn Stover Using Mixed Cultures of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus brevis*. *Bioresour Technol*. 102: 1831–1836.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- De Man, J.C.; Rogosa, M.; Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. 23 (130–135): 130–135.
- Delvia, F., Fridayanti, A., & Ibrahim, A. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera Indica L.*). *In Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 1. 114-120.
- Desniar, R. I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2011). Penapisan Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*

Indonesia. 14(2): 124-133.

- Dwidjoseputro, D. (2003). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Elfarisna, Rita, T. P., Suryati, Y., & Pradana, N. T. (2014). Isolasi Mikroba yang Dapat Menghilangkan Bau pada Pupuk Organik Air Limbah Cucian Beras. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*. 15(2): 91-96.
- Elfidasari, D. (2011). Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah *Escherichia coli* Terlarut. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. 1 (1).
- El-Hawary, Seham S., & Mohamed A. Rabeh. (2014). Mangifera Indica Peels: A Common Waste Product with Impressive Immunostimulant, Anticancer and Antimicrobial Potency. *Journal of Natural Sciences Research*. 4(3).
- Elifah, E. (2010). Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Methanol Dauk Sanggani (melastoma candidum, D.Don) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. FMIPA UNS. Surakarta
- Eni, R., W. Sari, & Rosdiana Moeksin. (2015). Pembuatan Bioetanol dari Air Limbah Cucian Beras Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Universitas Brawijaya*
- Etebu E, Ariekpar I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res*. 4:90-101.
- Fallo, G., Sine, Y., & Tael, O. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Air Rendaman Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Berpotensi sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Pendidikan Biologi undiksha*. 8(3). 161-169.
- Fardiaz, S. (1989). *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian. IPB Press. Bogor.
- Faridah, Hayyun Durrotul dan Silvia Kurnia Sari. (2019). Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Pengembangan Makanan Halal Berbasis Bioteknologi. *Journal of Halal Product and Research*. 12(1).
- Fevria, R., & Hartanto, I. (2019). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus* sp) from Sauerkraut with the addition of Cayenne Pepper. *Bioscience*, 3(2), 169-175.
- Fitrah, R., Irfan, M., & Saragih, R. (2017). Analisis Bakteri Tanah Di Hutan Larangan Adat Rumbio. *Jurnal Agroteknologi*. 8(1). 17-22.
- Fitri, Wichelia Nisya dan Driyanti Rahayu. (2018). Akitivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Melastomataceae Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Farmaka*. 16(2).
- G. M., Citra Wulandari, Muhartini, S., dan Trisnowati, S. (2012). Pengaruh Air

- Cucian Beras Merah dan Beras Putih Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Selada (*Lactuca sativa* L.). *Jurnal Vegetalica*. 1(2).
- Garbacz, K. (2022). Anticancer Activity of Lactic Acid Bacteria. *Semin. Cancer Biol.* 86: 356–366.
- Gibson, J. M. (1996). *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Hardi. (2012). Pengaruh Keahlian, Independensi, Kecermatan Potensial dengan Etika sebagai Variabel Moderasi terhadap Kualitas Auditor pada Inspektorat Provinsi Bengkulu. *Jurnal Sorot*. 8(1).
- Harley, J. P. (2005). *Laboratory Exercises in Microbiology*. New York: The McGraw– Hill.
- Hastari, R. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Hidayatullah, R. (2012). Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras sebagai Substrat Pembuatan Nata De Leri dengan Penambahan Kadar Gula Pasir dan Starter Berbeda. *Program Studi Biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi*. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Ed.*. Philadelphia: A Wolters Kluwer Company.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. 15. 55-63.
- Hussin, S. F. B. (2019). Detection Escherichia Coli Bakteria: A Riview of image Processing Methods. *International Journal of Software Engineering and Computer System*. 5 (2).
- Ikmalia. (2008). Analisa Profil Protein Isolat Escherichia coli S1 Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Skripsi*. Jakarta : Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah
- Indriyati, A. S. (2010). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Susu Formula Balita yang Berpotensi Menghasilkan Substansi Antimikroba. *Doctoral dissertation*. UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Ismail, D. (2012). Uji Bakteri *Escherichia coli* pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan Tanpa merek di Kota Surakarta. *Naskah Publikasi, Fakultas Kedokteran*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*. 1(2).

- Januarsyah, T. (2007). *Kajian aktivitas hambat bakteriosin dari bakteri asam laktat galur SCG 1223*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20*. Jakarta: EGC.
- Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*. 1(1). 18-23.
- Juliantina, F., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. (2009). Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 1: 12-20.
- Karimela, Ely John, Ijong, Frans G., & Henny Adeleida Dien. (2017). Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *JPHPI*. 20(1).
- Kasi, P. D., Ariandi, & Mutmainnah, H. (2017). Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biotropika*. 5(3): 97–101.
- Kemenkes. (2011). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 / Menkes / Per / XII / 2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khikmah, N. (2015). Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial Pada Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Saintek*. 20 (1) : 45-52.
- King T, Dykes G, Kristianti R. (2008). Comparative Evaluation of Methods Commonly Used to Determine Antimicrobial Susceptibility to Plant Extracts and Phenolic Compounds. *JAOAC Int*. 91:1423–9.
- Kumar, S. (2012). *Textbook of Microbiology*. New Delhi: Jaypee Brother Medical Publisher.
- Kusumawati, N., jenie, B. S. L., Setyahadi, S. & Hariyadi, R. D. (2003). Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus sebagai galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 11: 39-43.
- Laily, IN., Utami, R. dan Widowati E. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawiasin. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*. 2(4):179-184
- Lalla, M. (2018). Potensi Air Cucian Beras sebagai Pupuk Organik pada Tanaman Seledri (*Apium graveolens L.*). *Agropolitan*. 5(1): 38-43.
- Lay, B. W. dan Hastowo, S. (1992). *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Press.
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Leko, Arjuman, Vita N. Lawalata, Sandriana J. Nendissa. (2018). Kajian Penambahan Konsentrasi Susu Skim Terhadap Mutu Minuman Yogurt dari Limbah Air Cucian Beras Lokal. *Agritekno*. 7(2): 49-55.

- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., & Clark D.P. (2012). *Biology of Microorganism*. 13th ed. San Francisco: Pearson. P.
- Mahulette, F., Mubarik, N. R., Suwanto, Antonius, & Widanarni. (2016). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria From Inasua. *Journal Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 1(2): 71-76.
- Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. (2014). Development of the EUCAST Disk Diffusion Antimicrobial Susceptibility Testing Method and its Implementation In Routine Microbiology Laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 20:0255–66.
- Menon, S., & Satria, A. (2017). Mengkaji Aktivitas Antibakteri *Nasturtium officinale* and *Pilea melastomoides* Ethanol Extract Terhadap *Eschericia coli*. *Farmaka*. 15(1): 63-69.
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications Against Uropathogens: a Mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (2007). *Manual of Clinical Microbiology*. Ed. 9th.
- Muzaiifa, M. (2014). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* l.). *Jurnal Sagu*. 13(1): 8-13.
- Nadia, A. B., Jannah, S. N., & Purwantisari, S. (2020). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from *Apis mellifera* Stomach and their Potential as Antibacterial using in Vitro Test Against Growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*. *NICHE Journal of Tropical Biology*. 3(1). 35-44.
- Nataro, James P., & Kaper, James B. (1998). Diarrheagenic *Eschericia coli*. *Clinical Microbiology Review*. 11(1).
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal MIPA*. 2(2): 128-132.
- Nurdiansyah, S. I., Sofiana, M. S., Trianasta, M., & Hidayat, M. (2021). Antibacterial Activity of *Caulerpa Racemosa* Endophytic Fungi from Lemukutan Island Waters. *Jurnal Ilmu Kelautan SPERMONDE*. 7(2). 38-43.
- Nurhayati, B. S. L. J., HD Kusumaningrum, & S. Widowati. (2011). Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa paradisiaca* formatypica). *Jurnal Ilmu Dasar*. 12(2): 210-225.
- Nurnaafi, A., Iriani, S., & Desniar. (2015). Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam Ikan Nila. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 26(1). 109-114.
- Oktavia, H. T. (2013). Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Padat Secara Fermentasi Oleh *Saccharomyces*

- cerevisiae*. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 2(1): 1-8.
- Panawala, L. (2017). Difference Between Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Epediaa*. 3. 1-13.
- Pamaya, D., Muchlissin, S. I., Maharani, E. T. W., Darmawati, S., & Ethica, S. N. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Amyloliquefaciens* Irod2 Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 48 Jam. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional*. 1(1).
- Parija. (2009). *Textbook of Microbiology & Immunology*. India: Elsevier.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1988). *Dasar-dasar mikrobiologi jilid 2*. Jakarta: Penerbit UI,
- Pelczar, M. J. (2005). *Dsar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M. J. Chan, E. C. S. dan Pelczar, M. F. 2009. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2 (Diterjemahkan oleh: Hadioetomo, R. S. Imas, T. Tjitrosomo, S. S. dan Angka, S. L.)*. UI Press. Jakarta.
- Prastujati, A. U., Hilmi, M., Khusna, A., Arief, I. I., Makmur, S., & Maulida, Q. (2022). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria of Bekamal (Banyuwangi Traditional Fermented Meat). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1020 (1).
- Pratiwi, N. P. I. I., Suardana, I. W., & Suarsana, I. N. (2017). Karakterisasi Fisikokimia dan Uji Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Isolat 13 B Hasil Isolasi Kolon Sapi Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. 6(4). 278-287.
- Purwoko, T. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putra, T. P. (2015). *Isolasi Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Pembuatan Dangke Asal Kabupaten Enrekang* (Doctoral dissertation, UIN Alauddin Makassar).
- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(18), 1765.
- Rachmawati, I., Suranto, & Ratna, S. (2005). Uji Antibakteri Asam Laktat Asal Asinan Sawi terhadap Bakteri Patogen. *Bioteknologi*. 2: 43-48.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Ramadhanti, N., melia, S., hellyward, J., & purwati, E. (2021). Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Palm Sugar from West Sumatra, Indonesia and their Potential as a Probiotic. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 22(5).
- Reuter, G., Klein, G., & Goldberg, M. (2002). Identification of Probiotic Cultures

- in Food Samples. *Food Research International*. 35(2–3). 117–124.
- Romadhon, Subagiyo, & Sebastian M. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*. 3(1).
- Sablon, E., Contreras, B. & Vandamme, E. (2000). Antimicrobial Peptides of Lactic Acid Bacteria : Mode of Action, Genetics, and Biosynthesis. In:
- Sannasiddappa, Thippeswamy H., Adele Costabile, Glenn R. Gibson, & Simon R. Clarke. (2011). The Influence of *Staphylococcus aureus* on Gut Microbial Ecology in an *In Vitro* Continuous Culture Human Colonic Model System. *Plos One*. 6(8).
- Sari, R. A., Risa, N., & Puju, A. (2012). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Genus *Leuconostoc* dari Pekasam Ale-Ale Hasil Formulasi Skala Laboratorium. *JKK*. 1: 14-20.
- Sasmita, Aliansyah Halim, Aisyah Nur Sapriati, & Sukriani Kursia. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam dan Sawi). *As-Syifaa*. 10(2): 141-151.
- Scheved, F., A. Lalazar, & Y. Hens. (1993). Purification, Partial, Characterization, and Plasmids Linkage of Pediococcins SJ1, a Bacteriocins Produced by *Pediococcus acidilactici*. *Journal of Applied Environmental Microbiology*. 76(1).
- Setiabudi, R. (2007). *Pengantar Antimikroba*. dalam Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafrialdi. dan Elysabeth.. *Farmakologi dan Terapi*. Hal 585. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sharpe, M. E., Fryer, T. F., & Smith, D. G. (1966). Identification of the Lactic Acid Bacteria' in Identification Method for Microbiologists Part A' (Gibbs BM and Skinner FA eds.) London and New York. *Academic Press*. Tariku H (2013). *Research trends in modern food fermentation Biotechnology and Ethiopian Indigenous traditional fermented foods and beverages research achievements: A Review*. *Journal of Science and Sustainable Development*, 1, 71-86.
- Shihab, M. Q. (2003). *Tafsir Al- Misbah; Pesan, Kesan dan Keserasian Al- Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sitepu, R., Timur, S. Y. W., & Rollando, R. (2021). Identifikasi Genetik *Lactobacillus* dalam Fermentasi Air Cucian Beras dengan PCR (Polymerase Chain Reaction). *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 18(2), 133-146.
- Sofyan, A., Aswari, A. N., Purwoko, T., & Damayanti, E. (2013). Screening of Lactic Acid Bacteria from Rumen Liquor and King Grass Silage as well as their Antibacterial Activities. *Media Peternakan*. 36(3). 216-216.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., Nuraini, R. A. T., Setyati, W. A., & Pramesti, R. (2016). Metode Sederhana dan Cepat untuk Skrining Bakteri Asam Laktat Penghasil Bakteriosin (Antimicrobial Peptide) dari Intestinum

- Ikan dan Udang. *Buletin Oseanografi Marina*. 5(2). 97-100.
- Sudarmadji, S., & Kuswanto, K. (1989). *Proses Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: UGM.
- Suhartatik, N., Cahyanto, M. N., Rahardjo, S., Miyashita, M., & Rahayu, E. S. (2014). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Producing β Glucosidase from Indonesian Fermented Foods. *International Food Research Journal*. 21(3).
- Sunatmo, T. I. (2007). *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Bogor: Penerbit Ardy Agency.
- Supriyatna, A., Rohimah, I., Suryani, Y., & Sa'adah, S. (2012). Isolation and identification of cellulolytic bacteria from Waste organic vegetables and fruits for role in making Materials biogas. *Jurnal Istek*, 6(1-2).
- Suriawiria, U. (1996). *Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Air Buangan Secara Biologis*. Bandung: Penerbit Alumni.
- Suryani, Y., Astuti, O. B., & Umniyati, S. (2010). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 138-147.
- Susilowati, Santi. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Air Cucian Beras. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Syahrurachman, A., Chatim, A., & Kurniawati, A. (1994), *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Tille, P. M., & Bailey, S. (2014). *Diagnostic Microbiology*. Missouri: Elsevier, 202-927.
- Tripathi, N., & Sapra, A. (2020). Gram staining. *E-book*.
- Valgas C, de Souza SM, Smânia E, Smânia A. (2007). Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Braz J Microbiol*. 38:369–80.
- Waluyo, Lud. (2004). *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- Wang, Yaqi, Wu, Jiangtao, Lv, Mengxin, Shao, Zhen, Hungwe, Meluleki, Wang, Jinju, Bai, Xiaojia, Xie, Jingli, Wang, Yanping & Geng, Weitao. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and The Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 9.
- Wardiah, L., & H. R. (2014). Potensi Limbah Air Cucian Beras sebagai Pupuk Organik Cair pada Pertumbuhan Pakchoy (*Brassica rapa* L.). *Jurnal Biologi Edukasi Edisi 12*. 6(1): 34-38.
- Wardinal, W., Safika, S., & Ismail, Y. S. (2019). Identifikasi *Lactobacillus* sp. pada Orangutan Sumatera (Pongo abelii) Liar Menggunakan KIT API 50 CHL di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*. 7(1), 49-56.

- Wibowo, M. S. (2012). Pertumbuhan dan Kontrol Bakteri. *Jurnal Pertumbuhan Bakteri*. 1(1).
- Widowati, T. W., Hamzah, B., Wijaya, A., & Pambayun, R. (2014). Sifat Antagonistik *Lactobacillus* sp. B441 dan II442 Asal Tempoyak terhadap *Staphylococcus aureus*. *agriTECH*, 34(4), 430-438.
- Wikandari, P. R., Suparmo, S., Marsono, Y., & Rahayu, E. S. (2012). Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 120-125.
- Yulinery T. & Nurhidayat N. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri *Lactobacillus plantarum* Terseleksi dari Buah Markisa (*Passiflora edulis*) dan Kaitannya dengan Genplantarisin A (plnA). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*. 1 (2) : 273.
- Yulvizar, Cut. (2015). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Jrukek Drien, Provinsi Aceh. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. 7(1): 31-34.
- Zajmi, A., Mohd, H., N, Noordin, M.,I., Khalifa, S.,A.,M., Ramli, F., Mohd, A., H. (2015). Ultrastructural Study on the Antibacterial Activity of Artonin E versus Streptomycin against *Staphylococcus aureus* Strains. *PLoS ONE*, 10 (6): e0128157.
- Zotta, T., Parente, E., & Ricciardi, A. (2009). Viability Staining and Detection of Metabolic Activity of Sourdough Lactic Acid Bacteria Under Stress Conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25(6): 1119–1124.

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Makroskopis Isolat BAL dari Air Cucian Beras

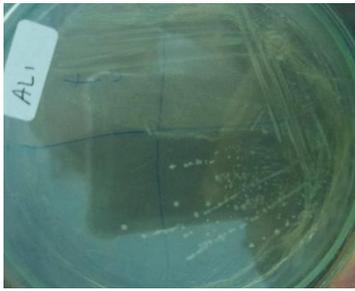
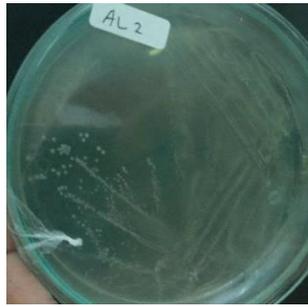
Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi (Permukaan)	Diameter (mm)
AL 1	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,50
AL 2	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,31
AL 3	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung	1,22

Ket. AL: Air Leri (Air cucian beras)

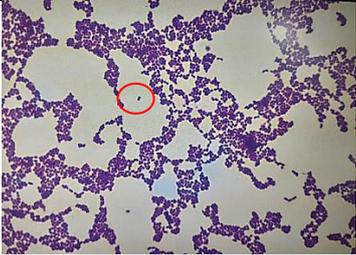
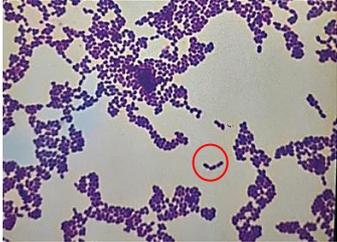
Lampiran 2. Data Hasil Pengamatan Karakteristik Mikroskopis Isolat BAL dari Air Cucian Beras

Isolat	Pengamatan				
	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram	Endospora	Uji Katalase	Uji Tipe Fermentasi
AL 1	Bulat	+	-	-	HM
AL 2	Bulat	+	-	-	HM
AL 3	Bulat	+	-	-	HM

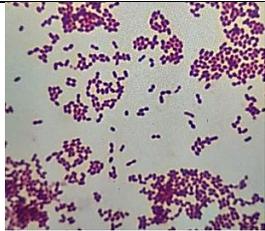
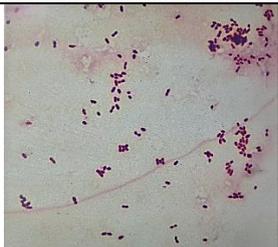
Ket: Reaksi positif (+), Reaksi negatif (-), Homofermentatif (HM), Heterofermentatif (HT).

Lampiran 3. Gambar Hasil Isolat dari Air Cucian Beras**AL 1****AL 2****AL 3**

Lampiran 4. Gambar Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras

Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel	Gambar
AL 1	+	Bulat	
AL 2	+	Bulat	
AL 3	+	Bulat	

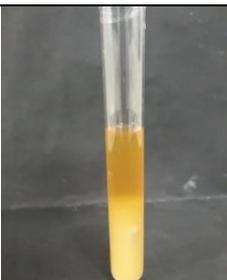
Lampiran 5. Gambar Hasil Pewarnaan Endospora Isoat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras

Kode Isolat	Endospora	Gambar
AL 1	-	
AL 2	-	
AL 3	-	

**Lampiran 6. Gambar Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)
dari Air Cucian Beras**

Kode Isolat	Uji Katalase	Gambar
AL 1	-	
AL 2	-	
AL 3	-	

Lampiran 7. Gambar Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Air Cucian Beras

Kode Isolat	Tipe Fermentasi	Gambar
AL 1	-	
AL 2	-	
AL 3	-	

(+) : Heterofermentatif, (-) : Homofermentatif

Lampiran 8. Hasil Pengukuran Zona Hambat Isolat BAL dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*

1. Zona Hambat isolat BAL dari Air Cucian Beras terhadap *S. aureus*

Kode Isolat	Ulangan	Zona Hambat (mm)	Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori Zona Hambat
K-	1	0	0	0	Tidak ada
	2	0			
AL1	1	2,66	5,28	2,64	Lemah
	2	2,62			
AL2	1	1,88	4,2	2,1	Lemah
	2	2,32			
AL3	1	4,93	10,11	5,055	Sedang
	2	5,18			
K+	1	12,04	23,19	11,595	Kuat
	2	11,15			

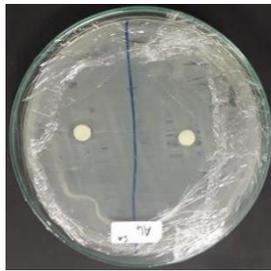
2. Zona Hambat isolat BAL dari Air Cucian Beras terhadap *E. Coli*

Kode Isolat	Ulangan	Zona Hambat (mm)	Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori Zona Hambat
K-	1	0	0	0	Tidak ada
	2	0			
AL1	1	2,69	5,56	2,78	Lemah
	2	2,87			
AL2	1	4,59	9,02	4,51	Lemah
	2	4,43			
AL3	1	5,07	10,22	5,11	Sedang
	2	5,15			
K+	1	10,87	21,23	10,615	Kuat
	2	10,36			

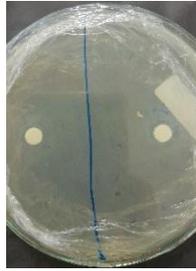
Ket. K- : Kontrol negatif (Aquades steril), K+ : Kontrol positif (*Streptomycin*)

Lampiran 9. Gambar Aktivitas Antibakteri BAL dari Air Cucian Beras terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

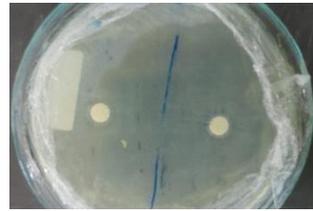
1. Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*



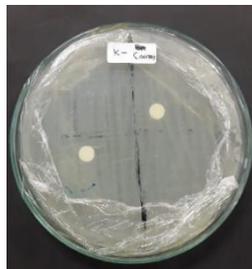
AL1



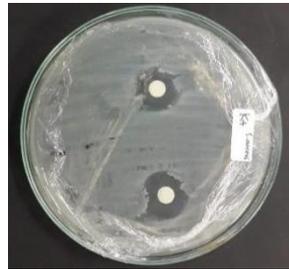
AL2



AL3

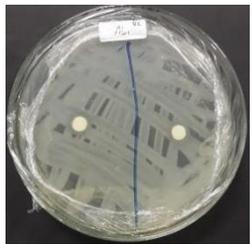


K-



K+

2. Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*



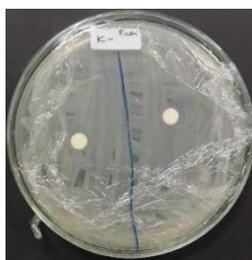
AL1



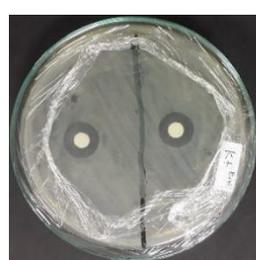
AL2



AL3



K-



K+



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

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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Hanis Ainur Rosyidah
NIM : 16620094
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2022/2023
Pembimbing : Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc.
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	28 - Jan - 2020	Konsultasi judul, tema skripsi	
2.	19 - Feb - 2020	Revisi judul dan tema skripsi	
3.	29 - Feb - 2020	Konsultasi BAB I, BAB II dan BAB III	
4.	12 - Mar - 2020	Revisi BAB I	
5.	23 - Mei - 2021	Konsultasi BAB I, BAB II, & BAB III	
6.	09 - Agu - 2021	Revisi BAB I, BAB II, & BAB III	
7.	06 - Jun - 2023	Konsultasi BAB I, II, III & BAB IV	
8.	26 - Jun - 2023	ACC Masalah Skripsi	
9.			
10.			

Pembimbing
Skripsi,

Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc.
NIP. 19900428 2016080 1 2062



Malang, 6 Juni 2023

Ketua Jurusan

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002



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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Hanis Ainur Rosyidah
NIM : 16620094
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2022/2023
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	14- Juni -2021	Konsultasi Integrasi BAB I	
2.	13-Agu -2021	ACC	
3.	7- Jun - 2023	Konsultasi Integrasi BAB IV	
4.	26- Jun - 2023	ACC Markah skripsi	
5.			

Pembimbing Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP.19890113 20180201 1 244



Malang, 6 Juni 2023
Ketua Jurusan,

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



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

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

Form Checklist Plagiasi

Nama : Hanis Ainur Rosyidah
NIM : 16620094
Judul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Air Cucian Beras sebagai
Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tim Check Plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	75%	



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

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