

POTENSI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi*

SKRIPSI

**Oleh:
ABUR RAIHAN NAGSABANDI
NIM. 17630012**



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

POTENSI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi*

SKRIPSI

**Oleh:
ABUR RAIHAN NAGSABANDI
17630012**

**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)**

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

POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh :
ABUR RAIHAN NAGSABANDI
NIM. 17630012

Telah Disetujui dan Disahkan pada Tanggal, 19 juni 2023

Pembimbing I



Dr. Anik Maunatin, S. T., M. P
NIDT. 19760105 20180201 2 248

Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Falruddin, M. S. I.
NIPT 20142011409

Mengetahui
Ketua Progam Studi



POTENSI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh:
ABUR RAIHAN NAGSABANDI
NIM. 17630012

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)
Tanggal: 19 juni 2023**

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M. Si NIP. 19810811 2008012 010	(..... )
Ketua Penguji	: Fadilah Nor Laili Lutfia, M. Biotech LB. 63033	(..... )
Sekretaris Penguji	: Dr. Anik Maunatin, S. T., M. P NIDT. 19760105 20180201 2 248	(..... )
Anggota Penguji	: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M. S. I NIPT. 20142011409	(..... )

Mengetahui
Ketua Program Studi


Rachmawati Ningsih, M. Si
NIP. 19810811 2008012 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Abur Raihan Nagsabandi
Nim : 17630012
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : POTENSI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN
OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP *Salmonella typhi*

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

Malang, 19 juni 2023
Yang membuat pernyataan



Abur Raihan Nagsabandi
NIM. 17630012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji dan syukur atas khadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Taufiq, Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“POTENSI EKSOPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi*”**. Sholawat besertakan salam senantiasa terpanjatkan dengan indah dan tulus terucap kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan para ulama serta umatnya. Penulisan skripsi ini tidak luput dari dukungan, motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, izinkanlah penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Progam Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S. T., M. P selaku dosen pembimbing yang dengan sabar meluangkan waktunya membimbing penulis dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

5. Bapak Dr. M. Muchlis Fahrudin, M. S. I selaku dosen pembimbing agama yang tak lelah memberikan arahan dan masukan bagi penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Ustadz Abdul Ro'uf, M. HI selaku orang tua asuh saya selama di kota malang yang tak lelah dan letihnya memberikan semangat dan motivasi serta nasehat agar penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Semoga amal baik semua pihak yang telah membantu penulis mendapatkan imbalan pahala yang berlipat ganda dari Allah SWT. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Untuk itu penulis mengharapkan masukan yang bersifat membangun demi menyempurnakan skripsi ini. Semoga tulisan ini bisa bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Malang,

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
خلاصة	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Bakteri Asam Laktat	7
2.2 Prinsip Sains Islam.....	8
2.3 <i>Weissella confusa</i>	9
2.4 Eksopolisakarida	10
2.4.1 Homopolisakarida (HoPS).....	11
2.4.2 Heteropolisakarida (HePS)	13
2.5 Biosintesis Eksopolisakarida.....	13
2.6 Produksi Eksopolisakarida.....	16
2.7 Bakteri Patogen.....	19

2.8	<i>Salmonella typhi</i>	19
2.9	Potensi Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri.....	20
2.9.1	Mekanisme Kerja Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri.....	22
2.10	Penentuan Kadar Gula Total Eksopolisakarida Metode Sulfat-Fenol	24
2.11	Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida.....	25
2.12	Spektroskopi Fourier Transform InfraRed (FTIR).....	25
BAB III METODOLOGI.....		29
3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian	29
3.2	Alat dan Bahan.....	29
3.2.1	Alat.....	29
3.2.2	Bahan	29
3.3	Rancangan Penelitian.....	30
3.4	Tahap Penelitian.....	30
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	31
3.5.1	Sterilisasi Alat	31
3.5.2	Produksi Eksopolisakarida.....	31
3.5.3	Uji Aktivitas Antibakteri.....	33
3.5.4.	Pembuatan Kurva Standard Glukosa	35
3.5.5	Analisis Kadar GulaTotal Eksopolisakarida	36
3.5.6	Pembuatan Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA).....	36
3.5.7	Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida.....	36
3.5.8	Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	37
3.5.9	Analisis Data.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		Error! Bookmark not defined.
4.1	Pembuatan Media.....	Error! Bookmark not defined.
4.2	Produksi Eksopolisakarida.....	Error! Bookmark not defined.
4.2.1	Regenerasi <i>W. confusa</i>	Error! Bookmark not defined.
4.2.2	Pembuatan Inokulum <i>W. confusa</i>	Error! Bookmark not defined.
4.2.3	Produksi dan Ekstraksi Eksopolisakarida	Error! Bookmark not defined.

- 4.3 Uji Antibakteri Eksopolisakarida terhadap *Salmonella typhi***Error! Bookmark not defined.**
- 4.3.1 Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)**Error! Bookmark not defined.**
- 4.3.2 Regenerasi *Salmonella typhi***Error! Bookmark not defined.**
- 4.3.3 Pembuatan Media MHB dan MHA.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.3.4 Pembuatan Inokulum *Salmonella typhi***Error! Bookmark not defined.**
- 4.3.5 Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Agar..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.4 Karakterisasi Eksopolisakarida secara Kimia**Error! Bookmark not defined.**
- 4.4.1 Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida **Error! Bookmark not defined.**
- 4.4.2 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida.....**Error! Bookmark not defined.**
- 4.4.3 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform InfraRed* (FTIR)**Error! Bookmark not defined.**
- 4.5 Pembahasan Penelitian dalam Perspektif Islam**Error! Bookmark not defined.**

BAB V PENUTUP.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Aktivitas Antibakteri Eksopolisakarida.....	52
Tabel 4.2 Karakteristik Kimia Eksopolisakarida.....	53
Tabel 4.3 Gugus Fungsi Spektra FTIR Eksopolisakarida	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri <i>Weissella confusa</i>	9
Gambar 2.2 Jenis HoPS glukana a) Reutan, b) Mutan, c) Dekstran, d) Alternan ...	12
Gambar 2.3 Jalur Biosintesis (HePS) (De Vuyst dan De Vin, 2007)	14
Gambar 2.4 <i>Salmonella typhi</i>	20
Gambar 2.5 Reaksi penentuan kadar gula total metode sulfat-fenol	24
Gambar 2.6 Spektroskopi FTIR	26
Gambar 2.7 Spektrum FTIR dari <i>W. confusa</i> OF126	26
Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Zona Hambat.	35
Gambar 4.1 Regenerasi <i>W. confusa</i>	49
Gambar 4.2 Inokulum <i>W. confusa</i>	40
Gambar 4.3 (A) Media hasil fermentasi, (B) pengendapan eksopolisakarida dengan penambahan etanol dingin.....	42
Gambar 4.4 Reaksi protein dengan TCA.. ..	42
Gambar 4.5 Eksopolisakarida kering	44
Gambar 4.6 Regenerasi <i>Salmonella typhi</i>	45
Gambar 4.7 Inokulum <i>Salmonella typhi</i>	47
Gambar 4.8 Ilustrasi potensi interaksi dinding sel eksopolisakarida	48
Gambar 4.9 Aktivitas antibakteri eksopolisakarida	49
Gambar 4.10 Kurva standar glukosa.....	52
Gambar 4.11 kurva standar protein.....	53
Gambar 4.12 spektra FTIR eksopolisakarida.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Tahapan Penelitian.....	67
Lampiran 2 : Skema Kerja.....	68
Lampiran 3. Perhitungan.....	74
Lampiran 4. Hasil Analisis SPSS.....	84
Lampiran 5. Dokumentasi.....	96
Lampiran 6. Keterangan Tambahan.....	97

ABSTRAK

Nagsabandi, A. R. 2022. **POTENSI EKSPOLISAKARIDA YANG DIHASILKAN OLEH *Weissella confusa* K2 SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi***. Skripsi Jurusan Kimia. Fakultas Sanis dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Anik Maunatin, S. T., M.P. Pembimbing II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Kata kunci: Eksopolisakarida, *Weissella confusa*, rendemen, antibakteri, gugus fungsi.

Eksopolisakarida (EPS) merupakan suatu polisakarida yang diproduksi dan disekresikan dari mikroba. Eksopolisakarida memiliki berbagai macam potensi, antara lain dalam bidang pangan, farmasi dan kesehatan. *Weissella confusa* (*W. confusa*) merupakan bakteri asam laktat yang dapat memproduksi eksopolisakarida dalam jumlah tinggi, *W. confusa* mampu menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* kemudian menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Salmonella typhi* serta profil gugus fungsi dari eksopolisakarida.

Penelitian ini mengekstrak eksopolisakarida yang berasal dari *W. confusa* K2 yang ditumbuhkan pada MRS broth dengan penambahan sukrosa 10%. Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu konsentrasi antibakteri 0.3125 mg/mL, 0.625 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL dan 5 mg/mL. Analisa yang dilakukan meliputi perhitungan rendemen eksopolisakarida, kadar total gula, kadar total protein dan identifikasi profil gugus fungsi eksopolisakarida menggunakan FTIR.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rendemen eksopolisakarida sebesar 19,549 g/L dengan warna kuning keruh. Aktivitas antibakteri eksopolisakarida terbaik terhadap *Salmonella typhi* yaitu 5,15 mm dengan konsentrasi 5 mg/mL. Analisis kadar gula total dan total protein didapatkan masing-masing sebesar 94,6% dan 0,1821%. Analisis gugus fungsi yang terdapat pada eksopolisakarida adalah O-H stretching, C-H stretching, C=O stretch, C-H, C-H₂ bending, C-O-C dan α -glikosidik. Uji statistik menunjukkan adanya beda nyata pada konsentrasi antibakteri eksopolisakarida terhadap zona hambat yang didapatkan ($\text{sig} < 0,05$).

ABSTRACT

Nagsabandi, A. R. 2022. **Exopolysaccharide Potency Produced by *Weissella confusa* K2 as Antibacterial Against *Salmonella Typhi***. Department Thesis Chemistry. Faculty of Science and Technology UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P. Advisor II: Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Keywords: Exopolysaccharide, *Weissella confusa*, yield, antibacterial, functional group.

Exopolysaccharide (EPS) is a polysaccharide produced and secreted from microbes. Exopolysaccharides have various potentials, including in the fields of food, pharmaceuticals and health *Weissella confusa* are lactic acid bacteria that can produce high amounts of exopolysaccharides, *W. confusa* capable of inhibiting pathogenic bacteria and spoilage bacteria. This study aims to determine the concentration of exopolysaccharide produced by *W. confusa* then tested its antibacterial activity against *Salmonella typhi* as well as functional group profiles of exopolysaccharides.

This study extracted exopolysaccharides from *W. confusa* K2 isolated longan gown in MRS broth with the addition of 10% sucrose. The design in this study used a single factor Completely Randomized Design (CRD), namely antibacterial concentrations of 0.3125 mg/mL, 0.625 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL and 5 mg/mL. The analysis included calculating exopolysaccharide yield, total glucose content, total protein content and identification of exopolysaccharide functional group profiles using FTIR.

The results of this study indicated that the yield of exopolysaccharide was 19.549 g/L with a cloudy yellow color. The best exopolysaccharide antibacterial activity against *Salmonella typhi* was 5.15 mm with a concentration of 5 mg/mL. Analysis of total glucose and total protein levels obtained respectively 94.6% and 0.1821%. Analysis of the functional groups found in exopolysaccharides is O-H stretching, C-H stretching, C=O stretching, C-H, C-H₂ bending, C-O-C and α -glycosidic.

خلاصة

نجساباندي، ابور ريجان. ٢٠٢٣. إمكانات عديدة السكرية الخارجية التي انتجتها ك٢ عزل فاكهة لونجان كمضاد للبكتيريا ضد السالمونيلا التيفية. قسم الكيمياء. اكلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولان مالك ابراهيم الإسلامية احلكومية مانج. املشرفة الؤل: أنيك معونة م. ف. املا جيستري ؛ املشرف الثاين :الدكتور. م. خملص فخر الدين املا جيستر.

الكلمات الرئيسية: عديدة السكرية الخارجية ، الخلط بين Weisella ، الحصول ، مضاد للجراثيم ، مجموعة وظيفية.

عديد السكرية الخارجي (EPS) هو عديد السكرية ينتج ويفرز من الميكروبات. تمتلك عديدة السكرية الخارجية إمكانات مختلفة ، بما في ذلك في مجالات الأغذية والأدوية والصحة. ويسيل الخلط هي بكتيريا حمض اللاكتيك التي يمكن أن تنتج كميات كبيرة من السكرية الخارجية ، ويسيل الخلط قادرة على تثبيط البكتيريا المسببة للأمراض وبكتيريا التلغ. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تركيز عديدة السكرية الخارجية التي ينتجها ويسيل الخلط ثم اختبار نشاطه المضاد للبكتيريا ضد السالمونيلا التيفية فضلا عن التشكيلات الجانبية الوظيفية للسكرية الخارجية.

استخلصت هذه الدراسة عديدة السكرية الخارجية من لونجان المعزول في *W. confusa* K2 المعزول في مرق MRS مع إضافة ١٠٪ سكروز. استخدم التصميم في هذه الدراسة عاملاً واحداً بتصميم عشوائياً تماماً (CRD) ، وهو تركيزات مضادة للجراثيم تبلغ ٠,٣١٢٥ مجم / مل ، و ٠,٦٢٥ مجم / مل ، و ١,٢٥ مجم / مل ، و ٢,٥ مجم / مل ، و ٥ مجم / مل. تضمن التحليل حساب إنتاجية عديدة السكرية الخارجية ومحتوى الجلوكوز الكلي ومحتوى البروتين الكلي وتحديد ملفات تعريف المجموعة الوظيفية للسكرية الخارجية باستخدام FTIR.

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن محصول عديد السكرية الخارجي كان ١٩,٥٤٩ جرام / لتر مع لون أصفر ضبابي. كان أفضل نشاط مضاد للجراثيم خارجي لعديد السكرية ضد السالمونيلا التيفية هو ٥,١٥ م بتركيز ٥ مجم / مل. تم الحصول على تحليل إجمالي لمستويات الجلوكوز والبروتين الكلي على التوالي ٩٤,٦٪ و ١,٨٢١٪. تحليل المجموعات الوظيفية الموجودة في عديدة السكرية الخارجية هو تمدد O-H ، وتمتد C-H ، و C=O ، و C-H ، و C-H₂ ، والانحناء C-O-C ، و α -glycosidic. تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها باستخدام اختبار One Way ANOVA (sig <0.05).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eksopolisakarida (EPS) adalah suatu polisakarida yang diproduksi dan disekresikan dari mikroba. Eksopolisakarida telah banyak diteliti karena memiliki berbagai macam potensi, antara lain dalam bidang farmasi, pangan dan kesehatan. Eksopolisakarida bermanfaat sebagai stabilisator, pengental, emulgator, pembentuk gel dan memiliki kemampuan mengikat air yang baik sehingga dapat mempertahankan tekstur agar tetap lembut selama penyimpanan (Anton, 2015). Banyak penelitian terdahulu yang mengkaji eksopolisakarida yang diproduksi dari bakteri asam laktat (BAL) karena manfaatnya termasuk ke dalam jenis bakteri baik yang terdapat dalam makanan dan minuman sehat, bakteri asam laktat juga berkontribusi dalam menghambat pembusukan makanan dan mikroorganisme patogen (Nurhikmayani, 2019).

Terdapat beberapa kelompok BAL yang dapat menghasilkan metabolit sekunder yaitu eksopolisakarida atau *Extracelullar polysaccharide* (Zubaidah, 2008). Polimer ini disekresikan oleh bakteri ke luar selnya saat mengalami kondisi yang tidak menguntungkan, kondisi yang diakibatkan oleh cekaman lingkungan tersebut membuat sel bakteri membentuk perlindungan diri dengan cara mensekresikan eksopolisakarida (Matejcekova, 2016). Selain itu eksopolisakarida juga berperan untuk memberikan perlindungan pada sel bakteri terhadap bakteriofag, fagositosis, stres osmotik, senyawa beracun dan berperan dalam pembentukan biofilm. Pada bidang industri makanan, polimer ini berperan dalam

meningkatkan tekstur produk, pengemulsi atau pembentukan gel, penstabil, viskositas dan rasa (Divya, 2020).

W. confusa merupakan bakteri asam laktat gram positif. *W. confusa* memiliki kemampuan menghasilkan asam laktat, bakteriosin dan juga hidrogen peroksida jika substrat yang mereka tempati mendukung untuk menghasilkan ketiga metabolit tersebut. Dengan adanya ketiga metabolit sekunder ini bakteri *W. confusa* dapat berperan membunuh serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada sistem pencernaan ikan (Tatiana, et, al., 2001). Aktivitas *W. confusa* bersifat stabil pada kondisi asam maupun pada suhu tinggi (Tenea, et, al., 2018).

Allah SWT menciptakan manusia dengan akal agar manusia dapat berfikir tentang ciptaan-Nya. Manusia diberikan kesempatan yang besar untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan yang Allah ciptakan. Manusia diperintahkan untuk senantiasa bertadabbur dengan ayat-ayat qouliyah (Al-Qur'an) serta bertafakkur dengan ayat-ayat kaumiyah (alam semesta) sehingga dapat memanfaatkan apa yang Allah ciptakan dengan bijaksana sebagaimana yang ditunjukkan pada ayat 29 pada surah Shad.

كِتَابٌ أَنْزَلْنَاهُ إِلَيْكَ مُبَارَكٌ لِيَدَّبَّرُوا آيَاتِهِ وَلِيَتَذَكَّرَ أُولُو الْأَلْبَابِ

“kitab (al-qur'an) yang kami turunkan kepadamu penuh berkah agar mereka menghayati ayat-ayat dan agar orang-orang yang berakal sehat mendapat pelajaran” (QS. Shad:29)

Ayat diatas memerintahkan kepada kita untuk terus belajar dan mengembangkan ilmu pengetahuan untuk mendapatkan keberkahan dalam kehidupan ini. Banyak sejatinya semua ilmu pengetahuan beserta fenomena yang ada saat ini telah dijelaskan dalam Al-Qur'an akan tetapi kita sebagai manusia

baru mampu membuktikannya. Salah satunya bukti keagungan Allah SWT adalah dengan adanya penciptaannya mikroorganisme yang ternyata memiliki banyak sekali manfaat dalam kehidupan sebagaimana yang telah dijelaskan pada paragraf sebelumnya.

Mengenai sejarah asal usul keberadaan bakteri diciptakan dan sebangsanya (binatang), dijelaskan melalui firman Allah SWT dalam kitab suci Al-Qur'an surah An-Nur ayat 45 sebagai berikut :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِنْ مَاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۗ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۗ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ

“Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (Q.S. An-Nur : 45)

Berdasarkan tafsir ayat diatas menegaskan bahwa, dan disamping bukti-bukti kekuasaan dan limpahan anugerah-Nya, Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air yang memancar sebagaimana Dia menciptakan tumbuhan dari air tercurah. Selanjutnya Allah menjadikan hewan-hewan itu beraneka ragam jenis potensi dan fungsinya, termasuk juga bakteri (Shihab, 2005).

Salmonella typhi merupakan bakteri penyebab demam tifoid dengan ciri-ciri demam yang berlangsung lama, dengan adanya inflamasi yang merusak usus dan organ-organ hati. Demam tifoid ini merupakan penyakit menular yang tersebar di seluruh dunia terutama di daerah tropis, di Indonesia kasus demam

tifoid sekitar 300-810 setiap 100.000 penduduk per tahun. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa eksopolisakarida memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang dapat diaplikasikan pada *Salmonella typhi* (Cita, 2011).

Tugce *et al.*, (2018), menguji aktivitas antibakteri eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* F-10 terhadap dua bakteri patogen yaitu *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, zona hambat dihasilkan *S. aureus* (18,21 mm dan 16,21 mm), dan *P. aeruginosa* (19,07 mm dan 18,28 mm). Chang *et al.*, (2019), menguji aktivitas antibakteri eksopolisakarida yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* terhadap tiga bakteri patogen yaitu *S. aureus*, *E. coli* dan *Salmonella typhi* masing-masing menghasilkan zona hambat berturut-turut sebesar (11,7 mm), (11,4 mm) dan (7,5 mm). Saleem *et al.*, (2021), menguji eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* (S123) sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen yaitu *E. coli* dan *Staphylococcus*, hasil zona penghambatan terhadap *E. coli* (11,5 mm), sedangkan terhadap *Staphylococcus* (7,2 mm).

Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh BAL mempunyai keragaman jenis berdasarkan bakteri penghasilnya, oleh karena itu penelitian ini akan melakukan analisa pengaruh konsentrasi eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* sebagai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri dari eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* K2 terhadap *Salmonella typhi*?

2. Bagaimana karakteristik eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* K2?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* K2 terhadap *Salmonella typhi*.
2. Untuk mengetahui karakteristik eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *W. confusa* K2.

1.4 Batasan Masalah

1. *W. confusa* yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil isolasi buah kelengkeng dari penelitian sebelumnya.
2. konsentrasi eksopolisakarida yang digunakan dalam uji antibakteri adalah 0,325; 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL dengan kontrol positif kloramfenikol.
3. Bakteri patogen yang digunakan untuk uji antibakteri adalah *Salmonella typhi* menggunakan metode Difusi Agar.

1.5 Manfaat

1. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai potensi eksopolisakarida dari *W. confusa* K2 sebagai antibakteri.
2. penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai produksi eksopolisakarida dari *W. confusa* K2.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, antimikroba, hidrogen peroksida dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi kesehatan (Nurhasanah *et al.*, 2020). BAL termasuk dalam bakteri gram positif, tidak membentuk spora, hampir semua strain tidak menghasilkan enzim katalase, tahan terhadap kondisi asam, dan bersifat fakultatif anaerob. BAL merupakan kelompok bakteri yang memenuhi standar GAS (*Generally Recognized as Safe*), yaitu bakteri baik yang aman bagi manusia (Nasution, 2012).

BAL dapat memproduksi senyawa antibakteri berupa asam organik, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida (H₂O₂) disetil, karbondioksida (CO₂), asetaldehida, menurunkan pH lingkungannya dan eksopolisakarida bakteri *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, spesies dan *Lactobacillus* adalah BAL yang bersifat probiotik yang telah diketahui dapat memproduksi eksopolisakarida yang bersifat antibakteri terhadap bakteri patogen (Tallon, *et al.*, 2003). Mekanisme kerja BAL tidak merusak karbohidrat secara fermentasi menjadi asam-asam organik (Nasution, 2012).

Ada 2 kelompok Bakteri Asam Laktat (Prescott, *et al.*, 1990) yaitu:

1. Bakteri homofermentatif yaitu glukosa yang difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk Seperti: *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus*

2. Bakteri heterofermentatif yaitu glukosa yang difermentasikan menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya seperti etanol, asam asetat dan CO₂.

2.2 Prinsip Sains Islam

Al-Qur'an menjelaskan bahwa bakteri merupakan organisme uniseluler sebagai bukti adanya materi fungsional di bawah sel yang dapat ditemukan dalam istilah *zarrah*. Istilah *zarrah* merupakan sebagai wujud zat atau substansi materi yang memiliki ukuran paling kecil yang dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mempelajari bakteri dan materi mikroskopik lainnya. Dengan kemajuan teknologi dan perkembangan keilmuan konsep sel sebagai materi fungsional terkecil ternyata dapat dipatahkan (Subandi, 2010).

Allah SWT berfirman dalam Q. S. Al-baqarah 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ

Artinya:

“Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu....” (Q. S. Al-baqarah: 26)

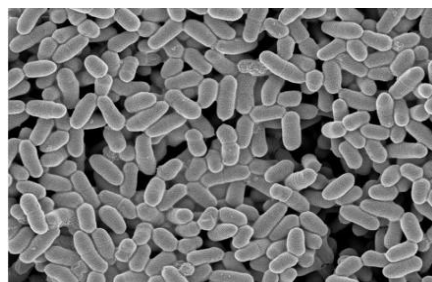
Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa lafadz ***“atau yang lebih dari itu”*** pada ayat ini menjelaskan sesuatu yang memiliki bentuk atau makna lebih kecil dibandingkan nyamuk. Adapun makhluk yang lebih kecil dari nyamuk salah satunya ialah bakteri. Bakteri memiliki berbagai jenis spesies yang hidup di darat, air, udara dan berbagai tempat ekstrim lainnya. Allah menjelaskan bahwa berbagai macam makhluk-Nya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Dengan hal

tersebut akan terasa pada manusia dan seluruh makhluk-Nya tentang kekuasaan Maha Pencipta.

Dengan diturunkan-Nya al-qur'an bagi manusia selain sebagai bukti akan kekuasaan-Nya, al-qur'an juga berperan sebagai pedoman bagi manusia untuk mendapatkan ilmu yang memiliki berbagai manfaat jika ditelaah dengan lebih baik dalam memahami isi kandungan yang terdapat didalamnya. Sebagaimana penelitian ini menjelaskan akan kelebihan dari buah kelengkeng yang memiliki manfaat dari bakteri baik yang terdapat pada buah tersebut dapat digunakan sebagai salah satu pencegah bakteri patogen (obat) alami.

2.3 *Weissella confusa*

W. confusa merupakan salah satu jenis BAL homofermentatif. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak dapat mereduksi nitrat, toleran terhadap asam dan mampu memproduksi asam laktat (Fusco, *et al.*, 2015).



Gambar 2.1 Bakteri *W. confusa* (Fusco, *et al.*, 2015)

Klasifikasi ilmiah dari *W. confusa*

Kerajaan : Bacteria
Divisi : *Frimicutes*

Kelas : *Bacili*
Ordo : *Lactobacillales*
Famili : *Lactobacillac*
Genus : *Lactobacillus*
Spesies : *W. confusa*

W. confusa menghasilkan dekstran yang merupakan eksopolisakarida dengan α -glukan. Dekstran bakteri ini diproduksi secara in-situ yang berguna dalam meningkatkan umur, volume dan nilai gizi pada roti. Selain memproduksi dekstran, *W. confusa* juga menghasilkan bakteriosin (Goh dan Philip, 2015). BAL dapat menghambat bakteri patogen dengan menghasilkan senyawa inhibitor (penghambat). Senyawa inhibitor akan melawan patogen untuk respon energi dan adhesi (Goyal, *et al.*, 2017).

2.4 Eksopolisakarida

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polimer yang berasal dari gula pereduksi dengan berat molekul tinggi yang disekresikan oleh mikroorganisme ke lingkungan eksternalnya. Eksopolisakarida umumnya terdiri atas monosakarida dan beberapa substituen non-karbohidrat seperti asetat, piruvat, suksinat dan fosfat. Selain itu juga eksopolisakarida dapat memproduksi biomolekul seperti protein, asam nukleat dan lipid. (Nouha, K. *et al.*, 2017).

Sutherland (1977), membagi eksopolisakarida menjadi dua kelompok besar berdasarkan komposisi kimia dan mekanisme sintesisnya, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida merupakan polimer yang terdiri atas satu macam monosakarida seperti glukosa atau fruktosa. Polimer eksopolisakarida dapat berupa rantai lurus atau bercabang. Heteropolisakarida

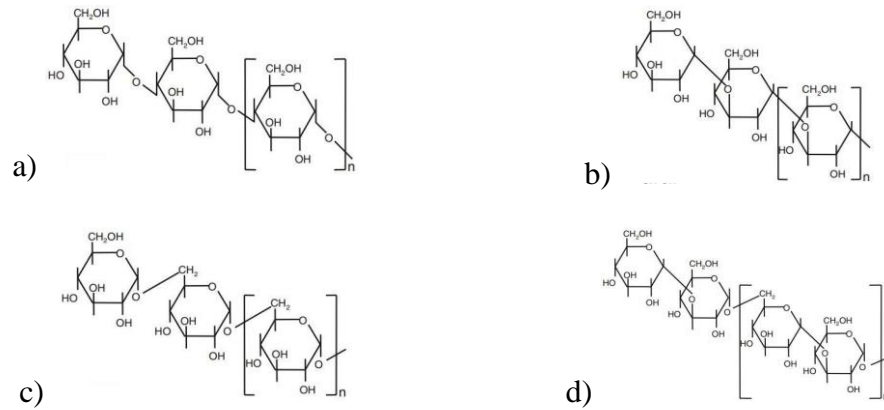
merupakan polisakarida yang mengandung 2-4 macam monosakarida seperti glukosa, fruktosa, galaktosa, mannososa dan rhamnosa. Sintesis heteropolisakarida berbeda dengan homopolisakarida, yaitu polimer ini diproduksi pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang dibentuk dalam sel.

2.4.1 Homopolisakarida (HoPS)

HoPS dapat diklasifikasikan berdasar jenis monosakarida yang menyusun strukturnya. Glukan yang memiliki ikatan α seperti dekstran yang hanya terdiri dari glukosa, pada fruktan seperti levan dan inulin yang hanya terdiri dari fruktosa, dan klasifikasinya dapat dilanjutkan berdasarkan ikatan glikosidik, cabang, berat molekul, panjang rantai dan struktur polimer. HoPS disintesis dari sukrosa dibantu oleh enzim glikoltransferase (glukansucrase), enzim yang terlibat dalam biosintesis glukan dan fruktan adalah glukosiltransferase (GTF) dan fruktosiltransferase (FTF). BAL yang diketahui dapat memproduksi HoPS adalah *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weisella* dan *Oenococcus* (Guerin, *et al.*, 2020).

Berdasarkan proses biosintesisnya HoPS bersifat ekstraseluler dan membutuhkan substrat yang spesifik. Enzim (GTF) spesifik untuk biosintesis *dextran* dan *levans*, terlibat dalam reaksi polimerisasi. Polisakarida dapat diproduksi baik menggunakan kultur sel bakteri utuh atau preparat bebas sel (Vuyst dan Degeest, 1999). Klasifikasi HoPS dibedakan berdasarkan jumlah atom karbon pada ikatan α dan β . Pada spesies *Pediococcus* dapat memproduksi β -

gukan sedangkan pada spesies *Lactobacillus*, *Streptococcus* dan *Lactobacillus* memproduksi α -D-glukan termasuk mutan, dextran, reutan, dan alternan.



Gambar 2.2 Jenis HoPS glukan a) Reutan, b) Mutan, c) Dekstran, d) Alternan

Dekstran terdiri dari rantai utama glukosil yang berulang dan terhubung oleh ikatan α -(1,6), sementara unit-unit sederhana atau rantai cabang terhubung melalui ikatan α -(1,2), α -(1,3), atau α -(1,4). Jumlah rantai cabang tidak mempengaruhi rapatnya struktur dekstran yang dapat mengurangi viskositas eksopolisakarida. Dekstran memiliki sifat reologi yang berbeda tergantung pada kelarutan dan variasi strukturalnya. Secara umum, dekstran digunakan sebagai pengganti plasma, agen pengental, dan pengemulsi. Mutan dekstran umumnya memiliki ikatan glikosidik α -(1,3), reutan umumnya memiliki ikatan glikosidik α -(1,4), dan alternan terhubung secara bergantian melalui ikatan α -(1,6) dan α -(1,3). Jenis HoPS (High-Molecular-Weight exo-Polysaccharide) ini memiliki kemampuan untuk berkontribusi pada adhesi mikroba (Guerin. M, et. al., 2020).

2.4.2 Heteropolisakarida (HePS)

Biosintesis HePS terdiri dari unit yang berulang dengan derajat polimerisasi yang berbeda dan terdiri dari dua hingga delapan monosakarida yang berbeda seperti rhamnosa, glukosa, fruktosa, galaktosa dan mannose. HePS diproduksi oleh *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Streptococcus*. Struktur HePS tergantung pada jumlah dan jenis monosakarida dan pada jenis ikatan yang terlibat, struktur yang terbentuk bisa linier atau dengan ikatan bercabang. HePS diproduksi oleh spesies *Lactobacillus* yang terdiri dari unit berulang dari tujuh monosakarida dengan galaktosa, glukosa dan rhamnosa sebagai gula utama (Guerin, 2020).

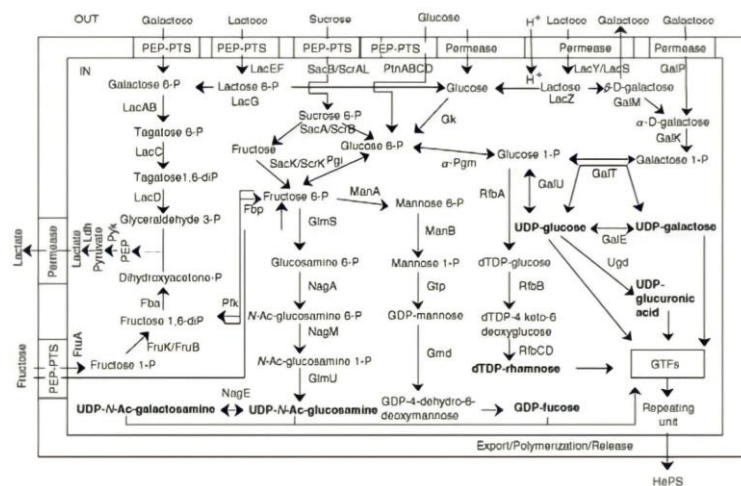
Berdasarkan penelitian terdahulu eksopolisakarida memiliki berbagai macam potensi dalam bidang pangan, farmasi dan kesehatan. Eksopolisakarida yang digunakan dalam bidang kesehatan seperti β -glukan, β -manan, antan, curdlan, gellan dan dekstran. Eksopolisakarida dalam bidang pengobatan memiliki kemampuan untuk menempel pada mukosa usus halus sehingga meningkatkan kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen. Eksopolisakarida telah terbukti memiliki aktivitas fisiologis seperti anti-virus, anti-tumor dan anti-inflamasi serta menjadi penginduksi interferon (Anindita, 2020).

2.5 Biosintesis Eksopolisakarida

Eksopolisakarida disintesis dalam fase-fase pertumbuhan yang berbeda dengan kondisi yang bervariasi tergantung jenis mikroorganismenya. Sintesis eksopolisakarida terbagi menjadi dua berdasarkan jenis bakterinya seperti bakteri

gram-positif dan gram-negatif memiliki mekanisme yang berbeda. Bakteri gram-positif (levan, dextran dan alternan) mensintesis eksopolisakarida dengan proses ekstraseluler (Vanhooren, *et al.*, 1998), sedangkan bakteri gram-negatif mensintesis eksopolisakarida secara intraseluler (xanthan, selulosa, gellan dan suksinoglikan) (Sutreland, 2001).

Proses sintesis dapat dibagi menjadi dua prinsip dasar yaitu sintesis dan prekursor alami contohnya seperti sintesis di luar dinding sel atau pada membran sel. Sintesis heteropolisakarida berbeda dengan sintesis monosakarida yang disintesis pada membran sitoplasma dengan memanfaatkan prekursor yang terbentuk intraseluler. Pada sitoplasma glukosa-1-fosfat dikonversi ke molekul utama pada sintesis eksopolisakarida (Cerning, 1990). Berikut adalah gambar jalur biosintesis eksopolisakarida:



Gambar 2.3 Jalur Biosintesis (HePS) (De Vuyst dan De Vin, 2007)

Biosintesis heteropolisakarida (HePS) menggunakan substrat berupa sukrosa yang terdiri atas beberapa tahapan. Substrat sukrosa diubah menjadi

sukrosa 6-p melalui jalur *Phosphoenolpyruvate-phosphotransferase system* (PEP-PTS), lalu dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa 6-P yang dikatalisis oleh enzim SacA/ScrB (sukrosa 6-fosfat hidrolase), fruktosa dan glukosa 6-P tersebut kemudian diubah menjadi fruktosa 6-P dengan katalis enzim SacK/ScrK (6-fruktokinase). Fruktosa 6-P menjadi glukosamin 6-P dengan katalis enzim Glms (glutamin-fruktosa 6-fosfat transaminase), glukosamin 6-P menjadi N-asetilglukosamin 6-P dengan katalis enzim NagA (N-asetilglukosamin 6-fosfat-deasetilase), N-asetilglukosamin 6-P menjadi N-asetilglukosamin 1-P dengan katalis enzim NagM (N-asetilglukosamin fosfomutase), N-asetilglukosamin 1-P menjadi UDP-N-asetilglukosamin dengan katalis enzim GimU (UDP-N-asetilglukosamin-porifosforilase), UDP-N-asetilglukosamin melakukan pengulangan unit baik rantai maupun cabang dengan bantuan Glikosiltransferase. Selanjutnya terjadi penggabungan, kemudian polisakarida yang terbentuk dikeluarkan dari sel dan terlarut di media fermentasi (De Vuyst dan De Vin, 2007).

Biosintesis HePS melalui pengubahan Fruktosa 6-P menjadi mannosa 6-P dengan katalis enzim MannA (mannosa 6-fosfat isomerase). Selanjutnya mannosa 6-P menjadi mannosa 1-P dikatalis oleh enzim MannB (fosfomannomutase), mannosa 1-P menjadi GDP-mannosa dikatalisis oleh enzim Gtp (mannosa 1-fosfatguaniltransferase), GDP-mannosa menjadi GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa dikatalisis oleh enzim Gmd (GDP-mannosa-4,6-dehidratase), GDP-4-dehidro-6-deoksimannosa menjadi GDP fruktosa dikatalisis oleh enzim GDP-fruktosa sintase, selanjutnya nukleotida gula berupa GTF

(glikosiltransferase) berperan menjadi penggabung monosakarida-monosakarida yang melakukan pengulangan unit hingga membentuk HePS (Sutheland, 2001).

2.6 Produksi Eksopolisakarida

Produksi eksopolisakarida biasanya dilakukan dengan menumbuhkan BAL pada media MRS padat yang dilengkapi dengan gula seperti maltose, sukrosa, fruktosa, laktosa atau glukosa, produksi eksopolisakarida juga dapat dilakukan dengan media cair yang dilengkapi dengan berbagai sumber seperti nitrogen, karbon dan vitamin. Secara umum koloni yang dihasilkan dari HoPS memiliki penampilan yang kental sedangkan HePS memiliki penampilan yang mengkilap (Guerin, *et al.*, 2020).

Fermentasi adalah proses redoks anaerobik, dimana terjadi oksidasi substrat digabungkan dengan pengurangan substrat atau zat yang berasal dari oksidasi, dengan perbedaan potensial redoks substrat dan produk akhir yang menyediakan energi untuk sintesis ATP. Kebanyakan fermentasi, substrat yang sama digunakan sebagai reduktor dan oksidan. Polimer seperti polisakarida, DNA, protein dan lipid diserang oleh enzim ekstraseluler dan rusak menjadi unit yang lebih kecil diambil oleh degader awal atau fermentor lainnya (Muller, 2001).

BAL merupakan bakteri yang terklasifikasikan dalam bakteri heterofementatif. BAL dalam proses fermentasi dapat menghasilkan asam asetat, asam laktat, mannitol, etanol, ester, dekstran dan CO₂. Produk fermentasi BAL dapat meningkatkan kestabilan rasa dan memiliki aroma yang khas (Carl, 1971). Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi eksopolisakarida dalam efisiensi

fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH, suhu, konsentrasi inokulum, konsentrasi substrat dan media (Velasco, 2006).

1. pH

pH merupakan salah satu parameter yang penting dalam mempengaruhi kondisi fermentasi BAL dalam produksi eksopolisakarida. Setiap bakteri memiliki pH optimum yang spesifik. Produksi eksopolisakarida oleh *L. plantarum* B2 pada produk probiotik berbasis buah murbei menghasilkan jumlah eksopolisakarida kasar yaitu sebanyak 1955,78 mg/mL pada pH 4,33 (Zubaidah, *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Kimmell *et al.*, (1998) isolat *Leuconostoc mesenteroides* bekerja optimum untuk memproduksi eksopolisakarida pada pH 5,0 dengan hasil rendemen terbaik 30 g/L.

2. Suhu

Salah merupakan faktor penting dalam proses fermentasi BAL dalam memproduksi eksopolisakarida. Suhu fermentasi yang terlalu tinggi akan berpengaruh terhadap mikroba dan enzim yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan enzim mengalami denaturasi sehingga akan rusak. Hasil penelitian dari Haroun *et al.*, (2013) bakteri *L. plantarum* NRRL B-4496 dalam memproduksi eksopolisakarida memiliki suhu optimum yaitu 30°C dengan hasil rendemen terbaik 650 mg/L.

3. Konsentrasi Inokulum

Inokulum merupakan bakteri yang ditumbuhkan pada media cair yang akan digunakan untuk fermentasi. Kadar inokulum pada fermentasi memberikan pengaruh terhadap hasil fermentasi (Pelczar, 2008). Hasil biosintesis eksopolisakarida dengan variasi inokulum 1; 2,5; 5; 10; 15 dan 20 mL/L menghasilkan jumlah eksopolisakarida tertinggi yaitu 650 mg/L pada konsentrasi inokulum 10 mL/L (Haroun, *et al.*, 2013).

4. Konsentrasi Substrat

Kecepatan suatu reaksi enzimatik pada umumnya dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi dari substrat meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi akan semakin rendah ketika akan mencapai titik kecepatan reaksi maksimum, sehingga penambahan konsentrasi substrat tidak berpengaruh lagi (Lehninger, 1997). Hal ini disebabkan semua molekul enzim telah membentuk ikatan kompleks dengan substrat yang selanjutnya kenaikan konsentrasi substrat tidak berpengaruh terhadap kecepatan reaksinya (Trenggono dan Sutardi, 1990).

5. Media

Media yang digunakan untuk mengoptimalkan produksi eksopolisakarida sangat beragam, karena rantai utama dari polimer ini merupakan glukosa. Yilmaz, *et al.*, (2015) menggunakan ayran (minuman khas turki) sebagai substrat pada produksi eksopolisakarida oleh *Streptococcus thermophilus* dan menghasilkan eksopolisakarida sebesar

29,31 mg/L. kemudian Ozkaya, *et al.*, (2007) menghasilkan eksopolisakarida yang diproduksi oleh *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* sebesar 350 mg/L. Menurut Badel *et al.*, (2011) media MRS dengan penambahan karbohidrat seperti glukosa, laktosa, sukrosa dan lainnya adalah media yang paling umum digunakan untuk memproduksi eksopolisakarida.

2.7 Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada inangnya dengan adanya perubahan jaringan melalui perubahan genetik (Suharni, *et al.*, 2008). Terdapat salah satu ciri dari bakteri patogen yaitu bersifat saprofit. Selain dapat menyebabkan penyakit, bakteri patogen juga dapat menurunkan dan memberikan pengaruh pada aspek kualitas serta kemunduran mutu pada sebuah produk (Ihsan, *et al.*, 2018).

Bakteri patogen ditandai dengan adanya gejala penyakit yang muncul ketika bakteri patogen merusak jaringan inang atau mengganggu fungsinya. Bakteri patogen dapat merusak sel inang secara langsung atau tidak langsung dengan memprovokasi sistem imun yang secara tidak langsung merusak sel inang (Geendwood, *et al.*, 2012) atau dengan melepaskan racun (Rudkin, *et al.*, 2017).

2.8 *Salmonella typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* adalah bakteri yang berbentuk batang berukuran 0,7-1,5 μm x 2,0-5,0 μm , bersifat gram negatif sehingga mempunyai komponen outer layer (lapisan luar) yang terdiri dari lipopolisakarida (LPS) dan dapat juga

berfungsi sebagai endotoksin serta bergerak menggunakan flagel peritrik (Darmawati, *et, al*, 2009). Berikut adalah gambar *Salmonella typhi*:



Gambar 2.4 *Salmonella typhi* (Wain, 2015)

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Orde	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: Salmonella typhi

Salmonella typhi termasuk famili *Enterobacteriaceae* yang kemudian dikelompokkan menjadi *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*. Salmonella termasuk golongan bakteri anaerob fakultatif, mesofilik, motil dan tidak membentuk spora. Pertumbuhan terjadi antara suhu 4-47°C (optimal pada suhu 37°C) dengan pH minimum 4. Bakteri ini bersifat parasit dan patogenik bagi banyak hewan dan manusia (Brooker, 2005).

2.9 Potensi Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri

Spesies *W. confusa* telah dilaporkan secara ekstensif dalam menghasilkan eksopolisakarida yang umumnya digunakan dalam industri makanan dan kesehatan bakteri tersebut diketahui menghasilkan eksopolisakarida yang tinggi

dan menunjukkan resistensi asam sehingga menjadikannya kandidat probiotik yang bagus dalam melewati saluran pencernaan menuju saluran gastrointestinal. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa eksopolisakarida mampu menjadi agen terapeutik yang mana dapat menangkal radikal bebas untuk mencegah kerusakan oksidatif, selain itu juga eksopolisakarida dapat berperan sebagai antibakteri dan antioksidan dengan fungsi yang hampir sama dengan obat antibakteri dan antioksidan sintesis namun memiliki efek samping yang minimal (Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2018).

Eksopolisakarida juga berperan dalam proses perlindungan sel bakteri dari kekeringan, mempertahankan fungsi seluler primer dan aktivitas antibakteri terhadap predator, kemampuan pembentukan gel dan degedasi polutan. Menurut Amalia (2012) produksi eksopolisakarida tersebut dilakukan sebagai perlindungan atau cara hidup BAL dari sel lain serta bakteriofag. Kapsul atau lendir eksopolisakarida dapat dikeluarkan secara fisik ataupun enzimatik tanpa mempengaruhi bakteri, sehingga tidak menyebabkan sel mikroba mati (Malaka, 2010). Saleem *et al.*, 2021 melaporkan bahwa *L. plantarum* S123 memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap *E. Coli* (11,5 mm) dan *Staphylococcus* (7,2 mm) hal tersebut dikarenakan adanya dinding sel yang tipis dari bakteri gram-negatif (*E.coli*) dibandingkan dengan dinding sel tebal dari bakteri gram-positif (*Staphylococcus*).

2.9.1 Mekanisme Kerja Eksopolisakarida Sebagai Antibakteri

Mekanisme penghambatan dari eksopolisakarida terhadap bakteri patogen pada dasarnya interaksi antar eksopolisakarida dengan dinding sel bakteri. Eksopolisakarida mampu menghambat bakteri patogen karena memiliki perbedaan muatan positif pada eksopolisakarida dan bakteri patogen yang bermuatan negatif, sehingga hal tersebut dapat menimbulkan interaksi elektrostatik yang mengganggu permeabilitas dinding sel dari bakteri patogen dan menyebabkan terhidrolisis sehingga mengakibatkan bocornya sel dan mematikannya (Aullybux *et al.*, 2019).

1. Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang rigid, yaitu dinding sel. Dinding sel berisi polimer mucopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino N-asetilglukosamin dan asetilmuramic (hanya terdapat pada bakteri). Dinding sel berfungsi mempertahankan bentuk organisme dan pelindung sel bakteri yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi (3-5 x lebih besar pada bakteri gram-positif daripada bakteri gram-negatif). Penghambatan dalam pembentukannya dapat menimbulkan lisis pada sel (Jawatz *et al.*, 2005).

2. Mengganggu Metabolisme Sel Mikroba

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu

menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 1980). Salah satu zat antibakteri yang banyak dipergunakan adalah antibiotik.

3. Penghambatan Terhadap Sintesis Protein

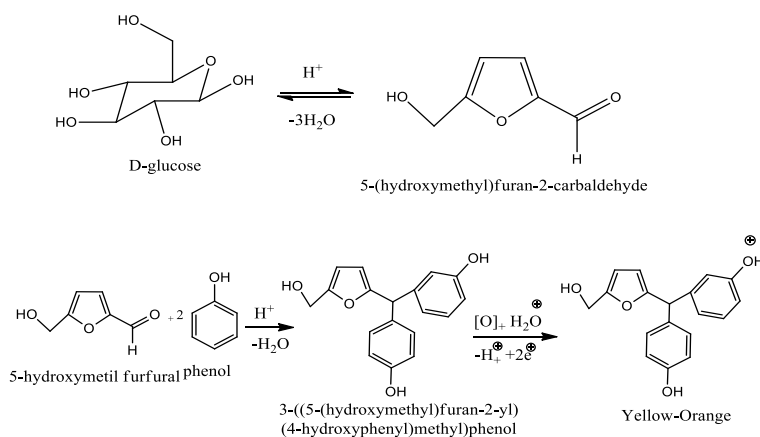
DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1988). Beberapa antibiotik seperti sikloserin menghambat reaksi paling dini dari proses sintesis dinding sel diikuti oleh vankomisin, basitrasin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin yang menghambat reaksi terakhir (Ganiswara. 2012).

4. Penghambatan Terhadap Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel makhluk hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Membran sitoplasma bakteri mempunyai struktur berbeda dibanding sel binatang dan dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen tertentu (Jawetz *et al.*, 2005).

2.10 Penentuan Kadar Gula Total Ekspolisakarida Metode Sulfat-Fenol

Prinsip metode sulfat fenol adalah proses pendehidrasian glukosa menjadi hidroksimetil furfural. Keberadaan senyawa ini ditandai dengan pembentukan warna hijau pada produk setelah penambahan fenol. Metode sulfat-fenol dapat dimanfaatkan untuk menentukan kadar gula dalam sampel (Brummer, 2005). Metode ini dapat mengukur dua molekul gula pereduksi. Gula sederhana, oligosakarida dan turunannya dapat dideteksi dengan fenol dalam asam sulfat yang pekat akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil. Penentuan glukosa menggunakan asam sulfat-fenol disebut juga dengan metode TS (*Total Sugar*) yang digunakan untuk mengukur kadar gula total (Nurjannah, 2019).



Gambar 2.5 Reaksi penentuan kadar gula total metode sulfat-fenol (Muhaimin, 2018)

Gula adalah golongan karbohidrat, baik gula reduksi ataupun gula non-reduksi. Larutan glukosa dalam sampel akan mengalami perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna kecoklatan. Hal ini disebabkan asam sulfat pekat ketika direaksikan dengan fenol dan glukosa akan menghasilkan panas yang

akan menyebabkan glukosa terhidrasi menjadi senyawa hidrosimetil furfural (Lailah, *et al.*, 2017).

2.11 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida

Penentuan kadar protein eksopolisakarida menggunakan metode lowry, kadar protein termasuk senyawa yang tidak diinginkan sehingga perlu dipisahkan. Metode lowry secara prinsip menggunakan reagen pendeteksi Folin-ciocalteu, reagen ini biasa digunakan untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik. Dalam keadaan basa, ion tembaga divalent (Cu^{2+}) dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen (Cu^{+}) (Bintang, 2010). Reagen Folin-Ciocalteu dapat mendeteksi residu oksidasi dimana gugus fenolik tirosin akan mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang terdapat pada reagen tersebut menjadi tungsten dan molibden berwarna biru, hasil reduksi tersebut dapat dianalisa lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar protein dapat ditentukan dengan membaca kurva standar yang dibuat dengan larutan protein murni yang telah diketahui kadar proteinnya seperti *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang memiliki rentang konsentrasi tertentu, kemudian konsentrasi sampel berprotein berada pada rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin menaik (Sudarmadji, *et al.*, 1981).

2.12 Spektroskopi Fourier Transform InfraRed (FTIR)

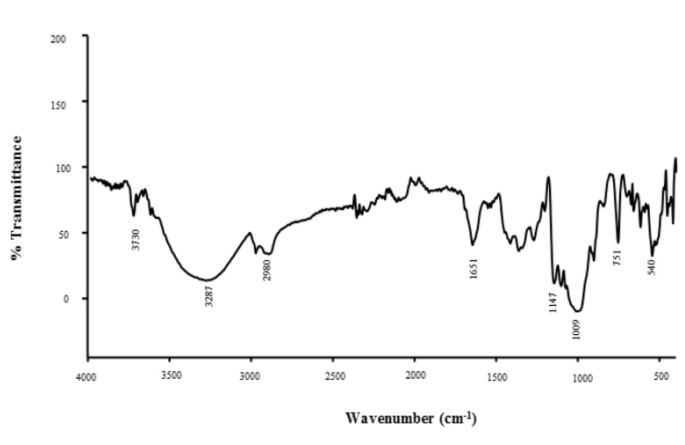
Spektroskopi *fourier transform infrared* (FTIR) adalah sebuah teknik yang digunakan untuk mendapatkan penyerapan spektrum inframerah atau emisi padat, cair atau gas. Spektroskopi secara bersamaan mengumpulkan data spektral

resolusi tinggi pada rentang spectra yang luas ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) (Giffith dan Hasseth, 2007). Instrument FTIR ditunjukkan pada gambar 2.5 berikut ini:



Gambar 2.6 Spektroskopi FTIR (Brault, 1996)

Tujuan Teknik spektroskopi adalah untuk mengukur seberapa banyak cahaya yang dapat diserap sampel pada setiap panjang gelombang atau menyinari berkas cahaya monokromatik pada sampel, mengukur berapa banyak cahaya yang diserap dan mengulangi untuk setiap panjang gelombang yang berbeda (Brault, 1996).



Gambar 2.7 Spektrum FTIR dari eksopolisakarida *W. confusa* OF126 (Adesulu-Dahunsi et, al., 2018)

Adanya gugus fungsi ditandai dengan adanya puncak serapan sehingga dapat diidentifikasi jenis senyawa sampel dengan menghitung dan membandingkan panjang gelombang pada tiap puncak. Menurut Adesulu-Dahunsi

(2018) mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat pada *W. confusa* menunjukkan adanya puncak pada beberapa bilangan Panjang gelombang sebagaimana pada Gambar 2.7.

BAB III METODOLOGI

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2022 – April 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi jangka sorong, bunsen, korek api, plastik tahan panas, kapas, aluminium foil, gelas ukur, *stirrer*, spatula, pipet tetes, jarum ose, gelas beaker, rak tabung reaksi, tabung reaksi, tabung sentrifugasi, *rotary evaporator*, *yellow tip*, *blue tip*, batang pengaduk, inkubator, cawan petri, Erlenmeyer, vorteks, pipet ukur, pipet mikro, sentrifus, *shaker*, *autoclave*, *hot plate*, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan *Laminar Air Flow* (LAF).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian kali ini meliputi *W. confusa*, *Salmonella typhi*, MRSA (*De Man Rogosa Sharpe Agar*) (Merck), MRSB (*De Man Rogosa Sharpe Broth*) (Pronadisa), NA (*Nutrien Agar*) (Merck), MHA (*Mueller Hinton Agar*) (Merck), MHB (*Mueller Hinton Broth*), NA (*Nutrien Agar*), NaOH (Merck), spirtus, akuabides steril, NaCl, etanol (absolut),

alkohol 70% (Onemed), akuades (water one), sukrosa steril dan *blanck disc* (Oxoid) diameter 6 mm.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh *W. confusa* K2 isolasi kelengkeng. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu variasi konsentrasi eksopolisakarida sebesar 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL terhadap bakteri patogen yaitu *Salmonella typhi*, dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada lima variasi konsentrasi eksopolisakarida. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Analisis dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri, kadar total gula dan kadar total protein.

3.4 Tahap Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut,

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Media

3.4.2 Produksi Eksopolisakarida

3.4.2.1 Pembuatan Media MRSA

3.4.2.2 Regenerasi *W. confusa*

3.4.2.3 Pembuatan Media MRSB

3.4.2.4 Pembuatan Inokulum *W. confusa*

3.4.2.5 Produksi Eksopolisakarida dengan Penambahan Sukrosa 10% pada Media

MRSB

3.4.2.6 Ekstraksi Eksopolisakarida

3.4.3 Uji Aktivitas Antibakteri

3.4.3.1 Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

3.4.3.2 Regenerasi *Salmonella typhi*

3.4.3.3 Pembuatan Media MHA

3.4.3.4 Pembuatan Media MHB

3.4.3.5 Pembuatan Inokulum *Salmonella typhi*

3.4.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri

3.4.4 Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida

3.4.5 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida

3.4.6 Identifikasi Profil Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

3.4.7 Analisis Data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat (Fauzi, 2013)

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dan disterilkan dengan cara dibungkus menggunakan aluminium foil atau plastik tahan panas. Kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121⁰C.

3.5.2 Produksi Eksopolisakarida

3.5.2.1 Pembuatan MRSA (*de Mann Rogosa Sharpe Agar*)

Media MRSA (*de Mann Rogosa and Sharpe Agar*) ini dibuat dengan menimbang sebanyak 6,82 g dan dihomogenkan dengan 100 mL akuades, campuran dipanaskan sampai mendidih, selanjutnya media dimasukkan ke dalam

Erlenmeyer dan ditutup kapas, Erlenmeyer dibungkus menggunakan plastik tahan panas dan diautoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan tekanan 15 psi.

3.5.2.2 Regenerasi *W. confusa* (Usmiati, 2007)

Regenerasi bakteri *W. confusa* dilakukan dengan cara diambil 2 ose biakan *W. confusa* dan dimasukkan ke dalam media MRS agar miring, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37⁰C.

3.5.2.3 Pembuatan Media MRSB (*de Mann Rogosa and Sharpe Broth*) dan MRSB + sukrosa 10%

Media MRSB 10,44 g ditambahkan akuades 200 mL dan dipanaskan sampai mendidih. Media dipindahkan pada beberapa Erlenmayer kemudian ditutup dengan kapas dan dimasukkan dalam plastik tahan panas, kemudian disterilkan. Ditambahkan 12,5 g sukrosa steril pada sedikit MRSB kemudian dihomogenkan, dimasukkan MRSB-sukrosa dalam labu takar 250 mL dan ditandabatkan.

3.5.2.4 Pembuatan Inokulum *W. confusa* (Ma'unatin, 2009)

Diambil 3 ose biakan *W. confusa* dan dimasukkan ke dalam 25 mL media MRSB, kemudian di *shaker* selama 18 jam dengan kecepatan 100 rpm. Diukur OD nya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 600 nm, kemudian disetarakan nilai OD nya 0,5.

3.5.2.5 Produksi Eksopolisakarida (Xu, *et. al.*, 2010)

Produksi EPS menggunakan media MRSB 100 mL serta ditambahkan sukrosa 10% (b/v). Selanjutnya ditambahkan inokulum *W. confusa* 5%(v/v). kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.

3.5.2.6 Ekstraksi Eksopolisakarida (Joo Seo, *et. al.*, 2015)

Hasil fermentasi disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm dengan suhu 4⁰C selama 15 menit. Supernatan diambil sebanyak 80 mL dan ditambahkan asam trikloroasetat sebanyak 3,2 g dengan konsentrasi akhir 4% dan dishaker selama 30 menit dengan kecepatan 100 rpm. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit pada suhu 4⁰C. Supernatan yang mengandung eksopolisakarida diambil sebanyak 75 mL dan ditambah dengan etanol dingin (absolute)(2 kali volume supernatan) dan dibiarkan pada suhu 4⁰C selama 24 jam. Endapan yang didapat dipisahkan dari filtrat, kemudian dikeringkan pada suhu 100⁰C selama 4 jam, dimana setiap jam ditimbang berat kering sampai konstan. Kadar eksopolisakarida kering ditentukan dengan menggunakan persamaan 3.1

$$\text{Kadar EPS (g/L)} = \frac{\text{berat eksopolisakarida kering (g)}}{\text{volume (L)}} \dots \dots ,3,1$$

3.5.3 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.3.1 Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

Ditimbang *Nutrien Agar* 2 g kemudian dilarutkan pada 100 mL akuades sambil dipanaskan sampai mendidih, dipindahkan pada empat Erlenmeyer dan disterilkan menggunakan *autoclave*.

3.5.3.2 Regenerasi *Salmonella typhi* (Saliban, et. al., 2009)

Diambil 3 ose *Salmonella typhi* dan digoreskan pada NA miring secara aseptis, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C.

3.5.3.3 Pembuatan Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) (Maarisit, et, al., 2021)

MHA (*Mueller Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 3,8 g, kemudian dilarutkan menggunakan akuades 100 mL kemudian dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih selanjutnya disterilkan dengan menggunakan *autoclave*.

3.5.3.4 Pembuatan Media MHB (*Mueller Hinton Broth*) (Maarisit, et, al., 2021)

MHB (*Mueller Hinton Broth*) ditimbang sebanyak 2,1 g, kemudian dilarutkan menggunakan akuades 100 mL kemudian dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih selanjutnya disterilkan dengan menggunakan *autoclave*.

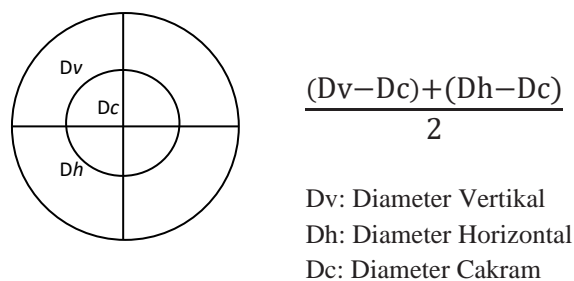
3.5.3.5 Pembuatan Inokulum *Salmonella typhi* (Saliban, et. al., 2009)

Diambil 3 ose hasil peremajaan *Salmonella typhi* ke dalam 25 mL media MHB, kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang. Kemudian dicek kekeruhan inokulum *Salmonella typhi* lalu disetarakan dengan OD 0,3 pada panjang gelombang 600 nm.

3.5.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Eksopolisakarida Terhadap *Salmonella typhi* (Patel, et. al., 2018) dan Perhitungan Zona Hambat (Dwi, 2019)

Dilarutkan eksopolisakarida 0,025 g dalam 5 mL DMSO 10%, kemudian dibuat konsentrasi 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL dengan pengulangan sebanyak empat kali, dipipet 100 µL inokulum *Salmonella typhi* dalam cawan

petri, kemudian dituang media MHA secukupnya, setelah mengeras ditaruhkan 5 cakram steril yang telah direndam pada masing-masing eksopolisakarida selama 30 menit dan 1 cakram kloramfenikol, ditambahkan 1 cakram yang telah direndam dengan larutan DMSO 10% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C, lalu diamati aktivitas antibakteri yang tumbuh. Kemudian setelah aktivitas antibakteri tumbuh, selanjutnya melakukan pengamatan dan perhitungan terhadap zona hambat yang terdapat pada sekitaran cakram, pengukuran dilakukan secara 2 kali yaitu menghitung diameter vertikal dan diameter horizontal dari kertas cakram kemudian dikurangi dengan diameter dari cakram pada setiap konsentrasi. Selanjutnya dibagi 2 untuk mendapatkan rata-rata dari luas zona hambat. Seperti rumus berikut (Dwi, 2019).



Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Zona Hambat

3.5.4. Pembuatan Kurva Standard Glukosa (Dubois, *et. al.*, 1956)

Dibuat larutan glukosa 1000 ppm dengan menimbang glukosa 0,01 g dan ditera sampai 100 mL, kemudian dibuat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm diambil masing-masing 2 mL larutan glukosa kemudian ditambahkan 1 mL fenol 5% dan divorteks sebentar, ditambahkan 5 mL asam sulfat dengan cepat dan

dibiarkan selama 10 menit, kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit dan diukur nilai absorbansinya pada λ 490 nm.

3.5.5 Analisis Kadar Gula Total Eksopolisakarida (Dubois, *et al.* 1956)

Ditimbang eksopolisakarida 0,01 g dan ditera sampai 250 mL, diambil 2 mL. kemudian ditambahkan 1 mL fenol 5% dan divorteks, kemudian ditambahkan asam sulfat sebanyak 5 mL dan dibiarkan selama 10 menit, setelah itu dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit dan diukur nilai absorbansinya pada λ 490 nm.

3.5.6 Pembuatan Kurva Standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Adesulu-Dahunsi, *et al.*, 2018)

Ditimbang 0,03 g BSA dan dilarutkan ke dalam 10 mL aquades kemudian dihomogenkan, dibuat konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Kemudian setiap konsentrasi diambil 1 mL lalu dimasukkan ke dalam setiap tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL reagen Lowry, selanjutnya divortex dan didiamkan selama 10 menit, ditambahkan 0,5 folin 1N. Selanjutnya diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit. Diukur absorbansinya pada λ 660 nm.

3.5.7 Analisis Kadar Protein Eksopolisakarida (Adesulu-Dahunsi, *et al.*, 2018)

Ditimbang eksopolisakarida sebanyak 0,02 g dan dilarutkan pada 5 mL aquades. Diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL reagen lowry, kemudian divortex dan didiamkan selama 10 menit, ditambahkan 0,5 folin 1N. diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian diukur absorbansinya pada λ 660 nm.

3.5.8 Analisis Gugus Fungsi Eksopolisakarida Menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Anton dan Zubaidah, 2015)

Ditimbang eksopolisakarida 0,01 g, ditumbuk sampai halus kemudian dihomogenkan dengan KBr 0,25 g, kemudian campuran dicetak menjadi pellet dan diukur menggunakan FTIR.

3.5.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu zona hambat yang dihasilkan dari aktivitas antibakteri eksopolisakarida *W. confusa* dianalisa dengan ragam varian *One Way* ANOVA. Jika terdapat pengaruh pada perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan signifikan 5%.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil penelitian ini didapatkan eksopolisakarida yang diekstrak dari *W. confusa* K2 memiliki rendemen sebesar 19,546 g/L dengan aktivitas antibakteri tertinggi yang didapatkan dari zona hambat yang tumbuh pada bakteri patogen *Salmonella typhi* sebesar 5,15 mm pada konsentrasi 5 mg/mL.
2. Kadar gula total 94,6%, kadar protein 0,182% serta hasil analisis FTIR menunjukkan adanya gugus O-H, C-H, C=O, -C-H/ -C-H₂, C-O-C dan α -glikosidik pada serapan panjang gelombang 3448 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹, 1665 cm⁻¹, 1342 cm⁻¹, 1154 cm⁻¹, 913 cm⁻¹.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambah konsentrasi eksopolisakarida untuk antibakteri yang diuji agar aktivitas antibakteri meningkat.
2. Perlu dilakukan karakterisasi jenis eksopolisakarida dengan mendeteksi tipe ikatan menggunakan (NMR) dan mendeteksi monomer penyusun eksopolisakarida dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC)

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, A. K., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shah, N. P., & Holley, R. (2021). Exopolysaccharides as antimicrobial agents: Mechanism and spectrum of activity. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 664395.
- Adesulu-Dahunsi dik., 2018. Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. Department of Microbiology, University of Ibadan, Nigeria.
- Adesulu-Dahunsi *et al.*, 2018. Extracellular Polysaccharide from *Weissella cibaria* OF126: Production, Optimization, and Characterization. Department of Microbiology, University of Ibadan, Ibadan, Oyo, State, Nigeria.
- Amalia, R. D. 2012. Eksplorasi Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Sawi Asin (*Brassica Juncea*). (Skripsi). Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.
- Anindita, Nosa. S. 2020. Identifikasi Glukosiltransferase (gtf) Penyandi Eksopolisakarida Pada Strain *Weissella Confusa* Probiotik Asal Air Susu Ibu (ASI). Progam Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.
- Anton, N dan Zubaidah E. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Jurnal Universitas Brawijaya Malang* 3 (2).743-748.
- Arasu, V. M., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, Ki C., dan Srigopalram, S. 2015. In-Vitro Importance of Probiotic *Lactobacillus Plantarum* Related to Medical Field. *Saudi Journal of Biology Science*. 2015. 09.022
- Atmojo, A.T., 2016. Media Mueller Hinton Agar. Available at: <http://medlab.id/media-mueller-hinton-agar.html>. Diakses pada 17 Februari 2017.
- Aullybux, A. A. *Et al.*, 2019. Phylogenetics and Antibacterial Properties of Exopolysaccharides from Marine Bacteria Isolated from *Mauritius Seawater*. Department of Agricultural and Food Science, Faculty of Agriculture, University of Mauritius, Réduit, Republic of Mauritius.
- Azizah, F. R. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Leuconostos mesenteroides*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Badel, S., Bernardi, T., and Michaud, P. 2011. New Perspectives for *Lactobacilli* Exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, *29*(1), 54-66
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, *6*(2), 71–79.

- Barbosa, Bomfin Vanessa., Jose Honorio., Pereira Lopes Neto., *et al.* 2020. Partial Characterization and Antioxidant Activity of Exopolysaccharides Produced
- Bozanic R, Galic K, Vukovic I, Svilovic S, Valic S, Hrnjak-Murgic Z. (2017). "Efficient isolation of exopolysaccharides from *Pseudomonas* sp. By ethanol precipitation." *Food Technology and Biotechnology*, 55(2), 223-230.
- Brault, James W. (1996). "New Approach to high-precision Fourier transform spectrometer design". *Applied Optics*. 35 (16):2891-2896.
- Brummer, Y. dan Cui., 2005. *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. E-book. 432-439. France: Taylor and Francis Group. LLC. Bucke, *et al.*, 1997 by *Lactobacillus plantarum* CNPC003. *LWT Food Science and Technology*.
- Carl, S. P. 1971. *Microbiology and Food Fermentation*. The Avi Publishing Company Inc. Connecticut.
- Cerning, J. 1990. *Exocellular Polysaccharides* Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga, Jakarta
- Choi, I. S., Ko, S. H., Lee, M. E., Kim, H. M., Yang, J. E., Jeong, S. G., ... & Park, H. W. (2021). Production, characterization, and antioxidant activities of an exopolysaccharide extracted from spent media wastewater after *Leuconostoc mesenteroides* fermentation. *Acs Omega*, 6(12), 8171-8178.
- Cita, Y.P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat, STIKes Istara Nusantara*.
- De Vuyst, L., dan De Vin, F. 2007. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria.
- Delgado, E., O. Spiricheva, S., and Varfolomeyev., 2001. Rhizopusoryzae Fungus Cell Producing L (+)-Lactic Acid Kinetic and Metabolic Parameters of Free and Pva Cryogel-Entrapped Mycelium. *Journal Appl Microbial Biotechnol*, 71, 480-485
- Divya, Chika Giyanto dan Endah Retnaningum. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura L*). *J. Sains Dasar*. 2020. 9(2) 42-49
- Dubois, M. Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugar and Related Substances. *Anal Chem*; 28: 350-356 Dwidjoseputro, 1980
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Yogyakarta: Djambatan
- Fusco, V., Quero, G. M., Cho, G. S., Kabisch, J., Meske, D., Neve, H., Bockelmann, W., & Franz, C. M. (2015). The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Frontiers in microbiology*, 6, 155. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00155>.
- Ganiswara, S. G. 2012. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: FKUI.
- Greenwood, D., Slack, R. C., Barer, M. R., & Irving, W. L. (2012). *Medical Microbiology E-Book: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control. With STUDENT CONSULT Online Access*. Elsevier Health Sciences.

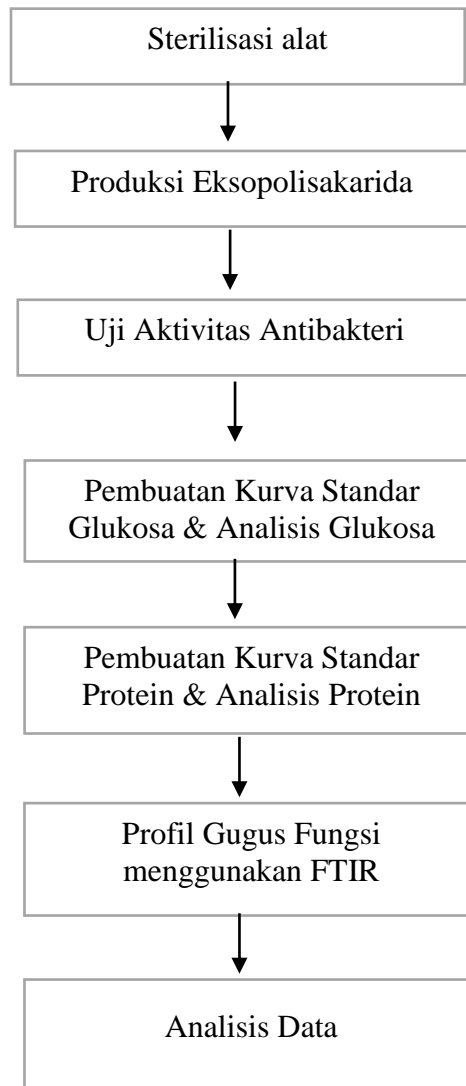
- Giffiths, P.; de Hasseth, J. A. (18 May 2007). *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (2nd ed.). Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-471-19404-0.
- Guerin, M, *et al.*, 2020. Lactic Acid Bacterial Production of Exopolysaccharides from Fruit and Vegetables and Associated Benefits. Qualisud, Université La Réunion, CIRAD, Université Montpellier, Montpellier SupAgo, Université Avignon, 2 rue Wetzell, F-97490 Sainte Clotilde, France.
- Guo, M. Q., Hu, X., Wang, C., & Ai, L. (2017). Polysaccharides: structure and solubility. *Solubility of polysaccharides*, 2, 8-21.
- Haroun B. M. El-Menoufy, H. A. Amin, H. A dan El-Waseif, A. A. 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from a Probiotic *Lactobacillus plantarum* Under Different Growth Condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2) 1256-1265.
- Jawatz., Melnick., dan Aldeberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba medika
- Jenie, S. L., dan Shinta, E. R., 1995. Aktivitas Antimikroba dari Beberapa Spesies *Lactobacillus* Terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 7(2), 46-511
- Joo Seo B, Bajpai VK, Rather IA, Park YH. 2015. Partially Purified Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 With Total Phenolic Content, Antioxidant, and free Radical Scavenging Efficacy. *Indian J Pharm Educ Res*; 49: 282-292.
- Kanmani, P., Kumar, R. S., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V., Arul, V., Bioresour. 2011. *Technology*. 102
- Kato, C *et al.*, 2013. Quick and Selective Synthesis Li6[α P2W18O62].28H2O Soluble in Various Organic Solvents. A Graduate School of Science, Hiroshima University, 1 3-1 Kagamiyama, Higashi Hiroshima 739-8526, Japan.
- Keweloh H, Rehm HJ. (1982). "Influence of growth rate on the fatty acid composition of *Escherichia coli*." *Journal of Bacteriology*, 151(1), 591-597
- Khairiyah, H., dan Puji Ardiningsi. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus sp.* RED4. JKK, tahun 2014, vol 3 (4), hal, 52 56. ISSN 2303-1077
- Kimmell S. A. dan Ziegler, G. R. 1998. Optimization of Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii supsp. Bulgaricus* RR Growth in a Semidefined Medium. *Applied and environmental Microbiology*, 64(4), 659 664.
- Klai, Nouha., Saurabh Kumar Ram., *et al.*, 2017. Critical review of EPS production, synthesis and composition for sludge flocculation. *Journal of Environmental Sciences* 66:225-245. DOI:10.1016/j.jes.2017.05.020.
- Lailah, R., Syauqi, A., dan Santoso, H. 2017. Aktivitas Jamur *Trichoderma Viride* pada Substrat Pasta Tepung Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Menggunakan Tolak Ukur Glukosa. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 3, 1-7.

- Lakra, Avanish Kant, Latha Domdi, Gagan Hajon, 2020. Some probiotic potential of *Weissella confusa* MD1 and *Weissella cibaria* MD2 isolated from fermented batter
- Lehninger, A. I. 1997. Biochemical Basic Volume I (Revised Edition). Jakarta: Erlangga
- Maarisit S, Angkouw ED, Manoppo REPMNDRH, Ginting2*, E.L., 2021. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Epifit Symbion Lamun *Thalassia hemprichii* dari Perairan Bahowo, Sulawesi Utara 9, 115-122.
- Malaka, Ratmawati. 2010. Eksopolisakarida Bakteri Starter Kultur Susu Fermentasi Sebagai Sumber Polisakarida Harapan di Masa Depan. *Prosiding*. DOI:10.13140/RG.2.2.23826.04803.
- Mao. H dan Z hengsong, 2016. Development and Application of Ultra-High Temperature Drilling Fluids in Offshore Oilfield Around Bohai Sea Bay Basin, China. China University of Petroleum.
- Matejcekova. Zuzana., Denisa Liptakova., *et al.* 2016. Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. December 2016. *Acta Chimica Slovaca* 9(2). DOI:10.1515/acs-2016-0018
- Maunatin, Anik dan Khanifa. 2012. Uji Potensi Probiotik *Lactobacillus plantarum* Secara In-Vitro. Vol. 2. No. 1. ALCHEMY. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Muhaimin., 2018, Pengaruh Suhu Hidrolisis Terhadap Kadar Glukosa yang Dihasilkan dari Serat Daun Nanas. *Jurnal Al-Kimia*, 6(1), 63-71.
- Muller, V., 2001. Bacterial Fermentation Encyclopedia of Life Science. DOI:10.1038/npg.els.0001415
- Nasution, F. S. 2012. Identifikasi Dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat pada Kotoran Ayam Broiler Sebagai Agensi Probiotik. (Skripsi). Universitas Negeri Medan.
- Nudyanto, A., dan Zubaidah, E. 2014. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Kimchi. *Journal Pangan dan Agroindustri*, 3(2).
- Nurhasanah, N., Fu'adah, I. T., Satria, H., dan Yuwono, S. D. 2020. Analisis Eksopolisakarida dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kefir Kolstrum. *Analit: Analytical and Environmental chemistry*, 5(1), 65-73.
- Nurhikmayani R., Daryono B.S., Retnaningum E. 2019, Isolation and Molecular Identification of Antimicrobial Producing Lactic Acid Bacteria from Chao, South Sulawesi (Indonesia) Fermented Fish Product, *Biodiversitas*. 20 (4), 1063-1068
- Nurjannah, L., *et al.* 2019. Produksi Asam Laktat Oleh *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Vol. 09, No. 01.
- Patel S, Majumder A, Goyal A. 2012. Potential of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Indian J Microbiol.*;52: 3-12.
- Pelczar, M. J. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi Sistem Fermentasi Cair. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, Vol 1, No 1, Halm 139-149.
- Pelczar, M. J. Dan E. C. S. Chan, 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi I, Universitas Indonesia Press. Jakarta

- Prescott, S. C., dan Dunn, G. C. 1990. Industrial Microbiology Third Edition. New York: Mc. Gaw Hill Book Company. Inc. Produce by Lactic Acid Bacteria. FEMS Microbiology review, 87:113-130.
- Riaz Rajoka, M. S., Wu, Y., Mehwish, H. M., Bansal, M., and Zhao, L. (2020). *Lactobacillus* exopolysaccharides: new perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. Trends Food Sci. Technol. 103, 36–48. doi: 10.1016/j.tifs.2020.06.003
- Rudkin, J. K., McLoughlin, R. M., Preston, A., & Massey, R. C. (2017). Bacterial toxins: Offensive, defensive, or something else al together?. *Plos pathogens*, 13(9), e1006452.
- Saleem, M., Malik, S., Mehwish, H. M., Ali, M. W., Hussain, N., Khurshid, M., and Chen, Y. (2021). Isolation and functional characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* S123 isolated from traditional Chinese cheese. Archives of Microbiology, 203(6), 3061-3070.
- Saliban, L. W. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Kulit Buah Sentul (*Sandoricum Koetjoe (burm. F.) Merr*) Terhadap Beberapa Bakteri Secara in Vitro. Universitas Sumatera Utara. Medan. Skripsi.
- Sawers G, Kaiser M, Sirko A, Freundlich M. (1989). "Transcriptional control by oxygen levels of the anaerobic *Escherichia coli*-outer membrane protein geneomp C." Journal of Bacteriology, 171(2), 696-701.
- Seok-yu, Hyung, Na-Kyoung Lee, Ae-Jin Choi. 2019. Antagonistic and antioxidant effect of probiotic *Weissella cibaria* JW15
- Shihab, M. 2005. Tafsir Al-Msibah, Vol: 1, cet 10, Ciputat: Lentera Hati
- Silva LF, Danelli A, Mendonça-Hagler LCS, Hagler AN. (2013). "Optical Density Measurement as a Biomass Estimation Method for Fat-Solvent-Producing Microorganisms." Microbial Ecology, 65(1), 188-195.
- Sivasankar, P., Seedeve, P., Pongodi, S., Sivakumar, M., Murugan, T., Sivakumar, L., et al. (2018). Characterization, antimicrobial and antioxidant property of exopolysaccharide mediated silver nanoparticles synthesized by *Streptomyces violaceus* MM72. Carbohydr. Polym. 181, 752–759. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.11.082
- Subandi, 2010. Mikrobiologi: Perkembangan, Kajian, dan Pengamatan. ISBN : 978 979-692-014-3
- Sudarmadji, Slamet. *Et al.*, 1981. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Sutherlad, I. W. 1977. Microbial Exopolysaccharide Synthesis. Extracellular Microbial Polysaccharides, 40-57
- Sutherlad, I. W. 2001. Microbial Polysaccharides from Gram-Negative Bacteria. International Dairy Journal, 11(9), 663-674.
- Tallon, *et al.*. 2003. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. Laboratoire de Microbiologie et Biochimie Appliquée, ENITA de Bordeaux, 1, cours du Général de Gaulle, BP 201, 33175 Gagnan, France.

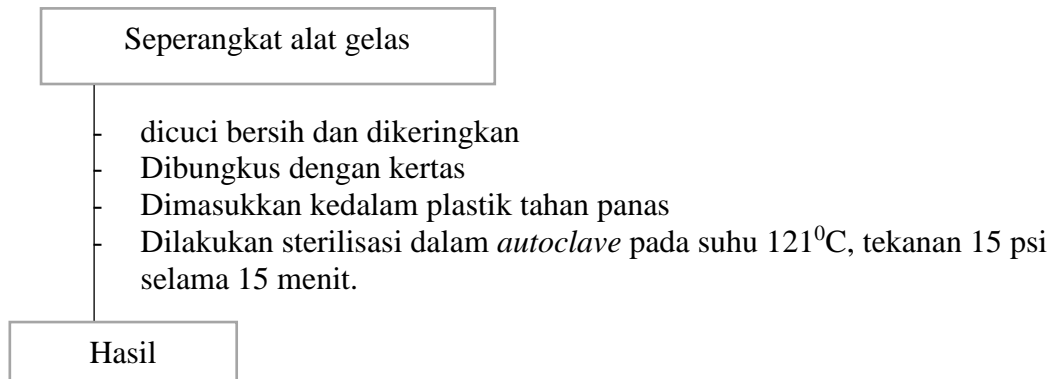
- Tatiana, S., Henao, L. G., & Amat, G. (2001). Distribución espacial de *Cordyceps* spp. (Ascomycotina: Clavicipitaceae) y su impacto sobre las hormigas en selvas del piedemonte amazónico de Colombia. *Revista de biología tropical*, 49(3-4), 945-955.
- Tenea, G. N., & Barrigas, A. (2018). The efficacy of bacteriocin-containing cell free supernatant from *Lactobacillus plantarum* Cys5-4 to control pathogenic bacteria growth in artisanal beverages. *International Food Research Journal*, 25(5), 2031-2037.
- Trenggono dan Sutardi, 1990. Biokimia dan Teknologi Pasca Panen. UGM Press. Yogyakarta.
- Usmiati, S. Tri M. 2007. Seleksi dan Optimasi Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Vanhooren, P. and Vandamme, E. J., 1998. Biosynthesis, Physiological Role, Use and Fermentation Process Characteristics of Bacterial Exopolysaccharides. *Recent Research Developments in Fermentation and Bioengineering*, 253-300.
- Velasco *et al*, 2006. Environmental Factors Influencing Growth of And Exopolysaccharide Formation by *Pediococcus palvulus* 2.6. *Int J Food Microbiol* 111, 252-258.
- Wain J, Hendriksen RS, Mikoleit ML, Keddy KH, Ochiai RL (March 2015). "Typhoid fever". *Lancet*. 385 (9973):1136–45. doi:10.1016/s01406736(13)62708 7. PMID 25458731. S2CID 2409150.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., dan Mulyati S. 2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Journal of Biology & Biology Education*. vol. 6, no. 1
- Wongsuphachat. Wararat, dkk. 2010. Optimization of exopolysaccharides production by *Weissella confusa* NH 02 isolated from Thai fermented sausages. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 32 (1), 27-35.
- Wuryanti, W., Mulyani, N. S., Asy'ari, M., & Sarjono, P. R. (2012). Uji Ekstrak Bawang Bombay sebagai Anti Bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *Bioma. Berkala Ilmiah Biologi*, 12(2), 68.
- Xu, R. H., Shen, Q., Ding X. L., Gao, W. G., dan Li, P. 2010. Chemical Characterization and Antioxidant Activity of an Exopolysaccharide Fraction Isolated from *Bifidobacterium Animalis* RH. *European Food Research and Technology*, 232, 231-241.
- Ye, S., Zhang, M., Yang, H., Wang, H., Xiao, S., Liu, Y., dan Wang, J. 2014. Biosorption of Cu^{2+} , Pb^{2+} dan Cr^{6+} by a Novel exopolysaccharide from *Arthrobacter* PS-5. *Carbohydrate polymers*, 101, 50-56
- Yilmaz, M. T., Dertli, E., Toker, O. S., Tatlisu, N. B., Sagdic, O., dan Arici, M. 2015. Effect of in Situ Exopolysaccharide Production on Physicochemical, Rheological, Sensory, and Microstructural Properties of the Yogurt Drink Ayran: an Optimization Study Based on Fermentation Kinetics. *Journal of Dairy Science* vol. 98 No. 3, 2015.

- Zhou, K., Zheng, Y., Yang, M., Chen, S., He, Li., Ao X., Zou, L dan Liu, S. 2016. Production, Purification and Structural Study of an Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* BC-25. *Carbohydrate polymers* (16) 30132
1
- Zhou, Q, dkk. 2017. Characterization of a Dextran Produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from Homemade Wine. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, PR China.
- Zubaidah, E., Liasari, Y., dan Saparianti, E. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1).

LAMPIRAN**Lampiran 1: Tahapan Penelitian**

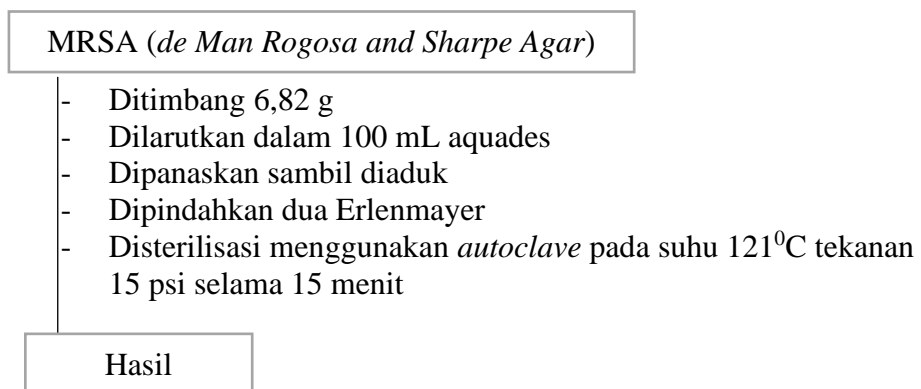
Lampiran 2 : Skema Kerja

1. Sterilisasi Alat

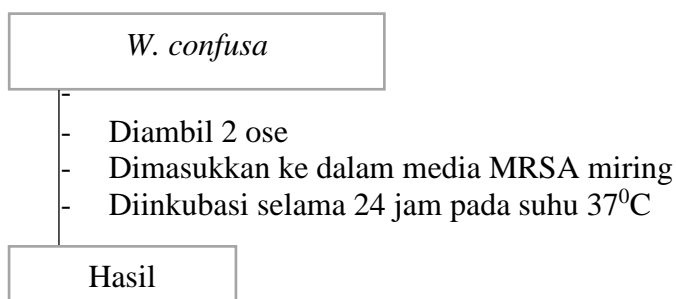


2. Produksi Ekspolisakarida

a. Media MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*)



b. Regenerasi *W. confusa*



c. Media MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) termodifikasi 10% sukrosa

MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*)

- Ditimbang sebanyak 11,03 g
- Dilarutkan dalam 200 mL aquades
- Dipanaskan dan diaduk sampai mendidih
- Dipindahkan dalam dua Erlenmayer
- Disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121⁰C, tekanan 15 psi selama 15 menit

Hasil

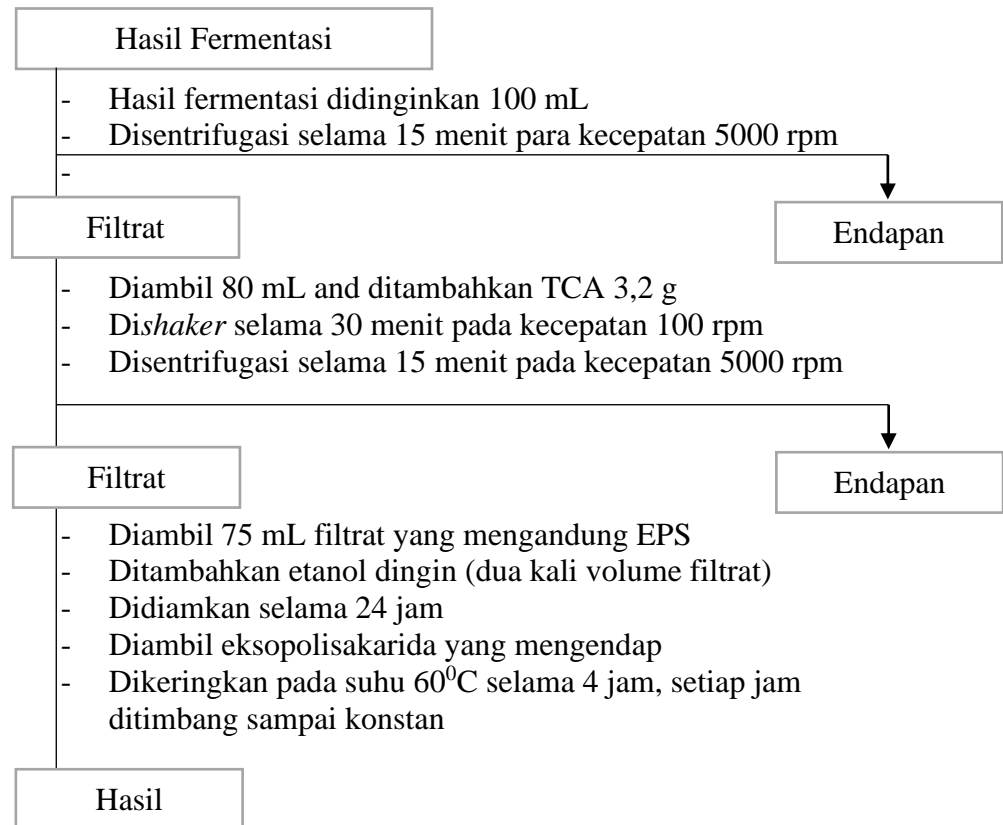
d. Pembuatan Inokulum dan Fermentasi *W. confusa*

W. confusa

- Diambil 3 ose
- Dimasukkan dalam 25 mL MRSB
- *Dishaker* selama 18 jam dengan kecepatan 100 rpm
- Diukur nilai OD pada λ 600nm
- Disetarakan OD nya 0,5
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C

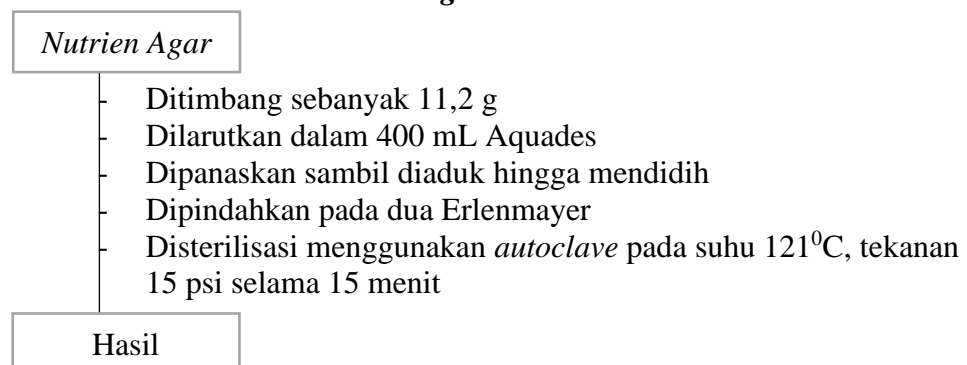
Hasil

e. Ekstraksi Eksopolisakarida

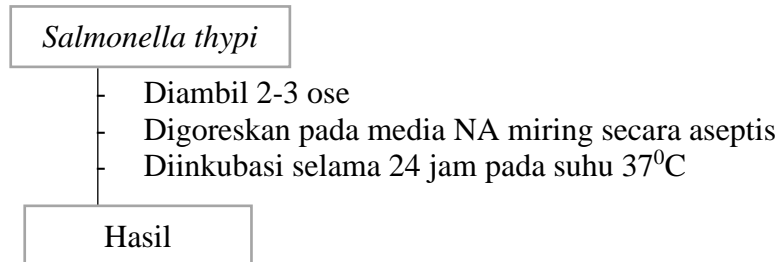


3. Uji Aktivitas Antibakteri

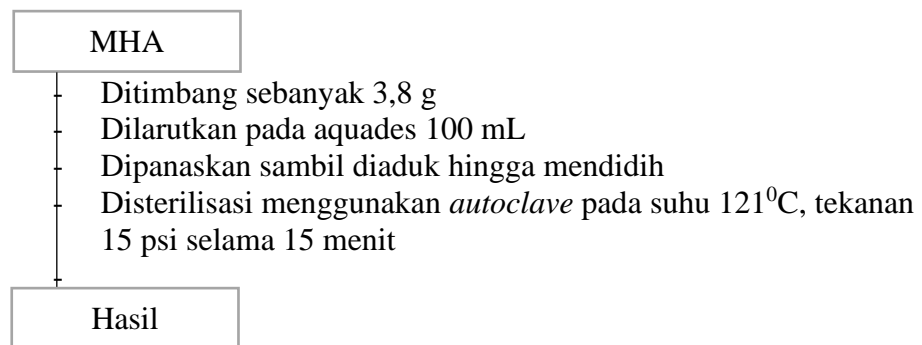
a. Pembuatan Media *Nutrien Agar*



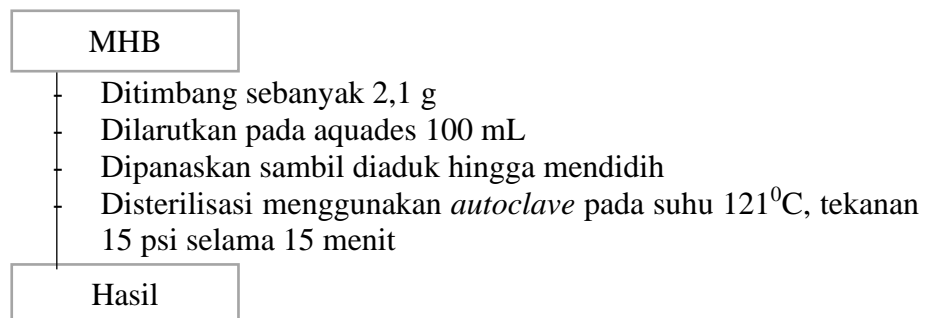
b. Regenerasi *Salmonella typhi*



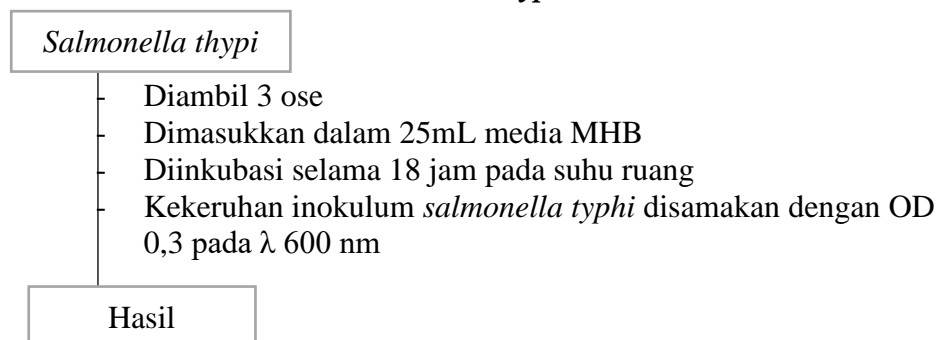
c. Pembuatan Media MHA



d. Pembuatan Media MHB



e. Pembuatan Inokulum *Salmonella typhi*



f. Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Agar

Salmonella thypi

- Ditimbang 0,025 g
- Dilarutkan pada 5 mL DMSO 10%
- Dibuat konsentrasi (0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5) mg/mL
- Dipipet 100 μ L inokulum *salmonella typhi*
- Dimasukkan dalam cawan petri
- Dituang media MHA secukupnya pada cawan
- Ditunggu sampai media mengeras
- Ditaruh 6 cakram kosong dan 1 cakram antibiotik kloramfenikol
- Direndam kertas cakram pada larutan eksopolisakarida berbagai konsentrasi pada cakram 1-5
- Cakram 6 diisi dengan pelarut DMSO 10%
- Ditunggu hingga 30 menit
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
- Diamati aktivitas antibakterinya

Hasil

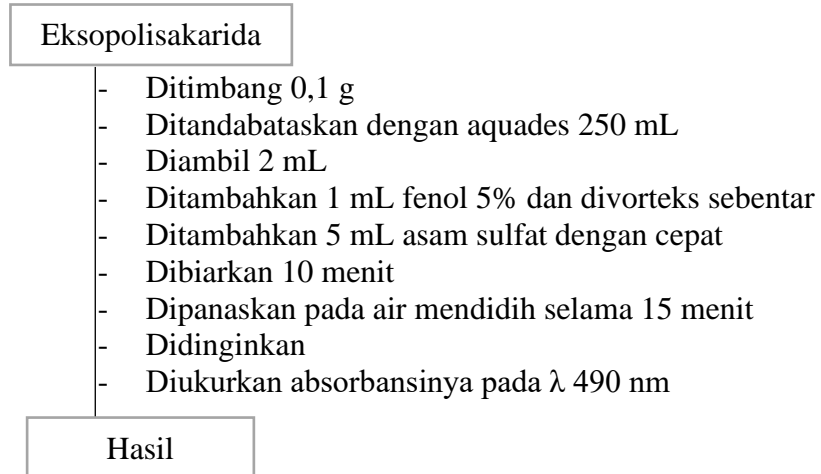
4. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Glukosa

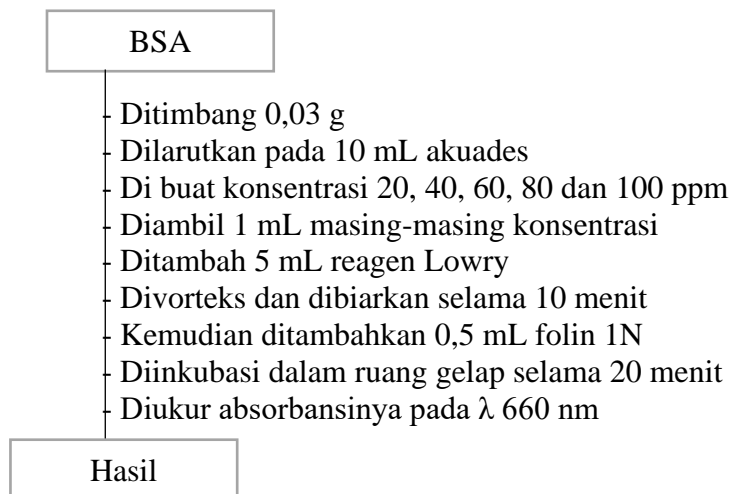
- Ditimbang 0,1 g
- Ditandabatkan dengan aquades 100 mL
- Dibuat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 ppm
- Diambil 2 mL masing-masing konsentrasi
- Ditambahkan 1 mL fenol 5% dan divortek sebentar
- Ditambahkan 5 mL asam sulfat dengan cepat
- Dibiarkan 10 menit
- Dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit
- Didinginkan
- Diukur absorbansinya pada λ 490 nm

Hasil

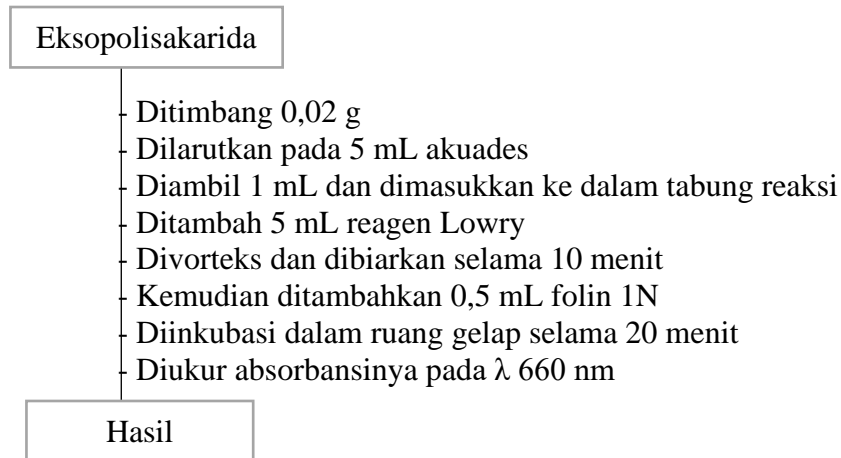
5. Analisa Kadar Gula total pada Eksopolisakarida



6. Pembuatan Kurva Standar *Bovine Serum Albumin (BSA)*



7. Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida



Lampiran 3. Perhitungan

1. Pembuatan larutan NaCl 0,85 %

$$\text{NaCl } 0,85\% \text{ (b/v)} = \frac{0,85 \text{ g NaCl}}{100 \text{ mL akuades}}$$

Larutan NaCl dibuat dengan ditimbang 0,85 g NaCl dengan neraca analitik, kemudian dilarutkan dengan aquades. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabataskan dan dihomogenkan.

2. Pembuatan larutan Fenol 5% (b/v)

$$\text{Fenol } 5\% \text{ (b/v)} = \frac{5 \text{ g fenol}}{100 \text{ mL akuades}}$$

Cara pembuatan: 5 g fenol ditimbang menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker 100 mL, dilarutkan dengan aquades kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditandabataskan dan dihomogenkan.

3. Pembuatan Inokulum OD 0,5

Isolat *Weissella confusa* yang ditumbuhkan dalam media MRSB telah diukur OD nya menggunakan Spektrofotomeer UV-Vis dengan nilai 1,548. Pembuatan inokulum kerja dengan nilai OD 0,5 dengan volume 20 mL dicari menggunakan persamaan berikut,

$$OD1.V1 = OD2.V2$$

$$1,548 \times V1 = 0,5 \times 20 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{0,5 \times 20 \text{ mL}}{1,548} = 6,459 \text{ mL}$$

Inokulum kerja OD 0,5 20 mL di buat dengan menambahkan 6,459 mL inokulum induk dan 13,540 mL MRSB

4. Rendemen Eksopolisakarida

Produksi eksopolisakarida dari fermentasi menggunakan bakteri *W. confuse* pada 100 mL media de Man rogosa and Shaarpe broth dengan penambahan sukrosa 10% adalah 19,546667 g/mL

$$\begin{aligned} \text{Randemen EPS (mg/L)} &= \frac{\text{berat kering eksopolisakarida (mg)}}{\text{volume media (L)}} \\ &= \frac{19,546667 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \\ &= 19,546667 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

5. Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Agar

Metode difusi agar dilakukan dengan melarutkan 0.025 g eksopolisakarida dalam 5 mL DMSO 10%, kemudian dibuat konsentrasi 0,3125 mg/mL; 0,625 mg/mL; 1,25 mg/mL; 2,5 mg/mL dan 5 mg/mL dengan pengulangan sebanyak empat kali. Inokulum *Salmonella typhi* dibuat kekeruhannya setara dengan OD 0,3 kemudian

diambil 100 μL dan ditaruh pada cawan petri steril, dimasukkan media MHA cair secukupnya dan dibiarkan mengeras, kemudian *black disc* dan kertas cakram kloramfenikol ditempatkan pada agar, *black disc* direndam masing-masing kertas cakram selama 30 menit. Kemudian di inkubasi selama 24 jam dan diukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Hasil zona hambat ditunjukkan pada Tabel 5.1 Pembuatan larutan antibakteri 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5 dan 5 mg/mL dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok induk melalui perhitungan sebagai berikut:

5.1 Pembuatan Konsentrasi Eksopolisakarida pada Uji Antibakteri

Pembuatan Konsentrasi 5 mg/mL (0,005%)

$$\frac{0,025 \text{ g}}{5} \Rightarrow 0,005 \text{ g/mL} = 0,005\%$$

$$0,005 \text{ g/mL} = 5 \text{ mg/mL}$$

Pembuatan Konsentrasi

- **2,5 mg/mL \rightarrow 0,0025 g/mL \rightarrow 0,0025%**

$$5 \text{ mg/mL} \times 2,5 = \text{M2} \times 5 \text{ mL}$$

$$\text{M2} = \frac{12,5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

$$\text{M2} = 2,5 \text{ mg/mL}$$

- **1,25 mg/mL \rightarrow 0,00125 g/mL \rightarrow 0,00125%**

$$2,5 \text{ mg/mL} \times 2,5 \text{ mL} = \text{M2} \times 5 \text{ mL}$$

$$\text{M2} = \frac{6,25 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

$$\text{M2} = 1,25 \text{ mg/mL}$$

- **0,625 mg/mL \rightarrow 0,000625 g/mL \rightarrow 0,000625%**

$$1,25 \text{ mg/mL} \times 2,5 \text{ mL} = \text{M2} \times 5 \text{ mL}$$

$$\text{M2} = \frac{3,125 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

$$M2 = 0,625 \text{ mg/mL}$$

- **0,3125 mg/mL → 0,0003125 g/mL → 0,0003125**

$$0,625 \text{ mg/mL} \times 2,5 \text{ mL} = M2 \times 5 \text{ mL}$$

$$M2 = \frac{1,5625 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

$$M2 = 0,3125 \text{ mg/mL}$$

Tabel 5.1 Aktivitas antibakteri eksopolisakarida metode difusi agar

Konsentrasi Eksopolisakarida (mg/mL)	Zona hambat (mm)				
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
DMSO 10%	-	-	-	-	-
0,3125	2,05	2,2	2,1	1,5	
0,625	2,65	3,25	2,35	2,35	
1,25	3,8	3,35	2,95	5,3	
2,5	4,65	5,5	3,75	4,8	
5	4,9	5,8	3,85	6,05	
siprofloksasim	14	15,1	14,6	13,95	

6. Kurva Standar Glukosa

Pembuatan konsentrasi glukosa standar 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm.

$$\text{Stok glukosa baku} = \frac{100 \text{ mg glukosa anhidrat}}{0,1 \text{ L aquades}}$$

Cara pembuatan larutan stok 1000 ppm: ditimbang glukosa sebanyak 100 mg. kemudian dimasukkan ke dalam gelas beker.

Selanjutnya ditambahkan dengan aquades secukupnya sampai glukosa terlarut. Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan. Larutan ini akan digunakan sebagai larutan stok untuk pembuatan larutan glukosa standar.

Pembuatan larutan glukosa 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok glukosa baku melalui perhitungan sebagai berikut:

A. Konsentrasi 10 ppm:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

B. Konsentrasi 20 ppm:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

C. Konsentrasi 30 ppm:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 30 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

D. Konsentrasi 40 ppm:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

E. Konsentrasi 50 ppm:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V1 = 5 \text{ mL}$$

F. Konsentrasi 60 ppm:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

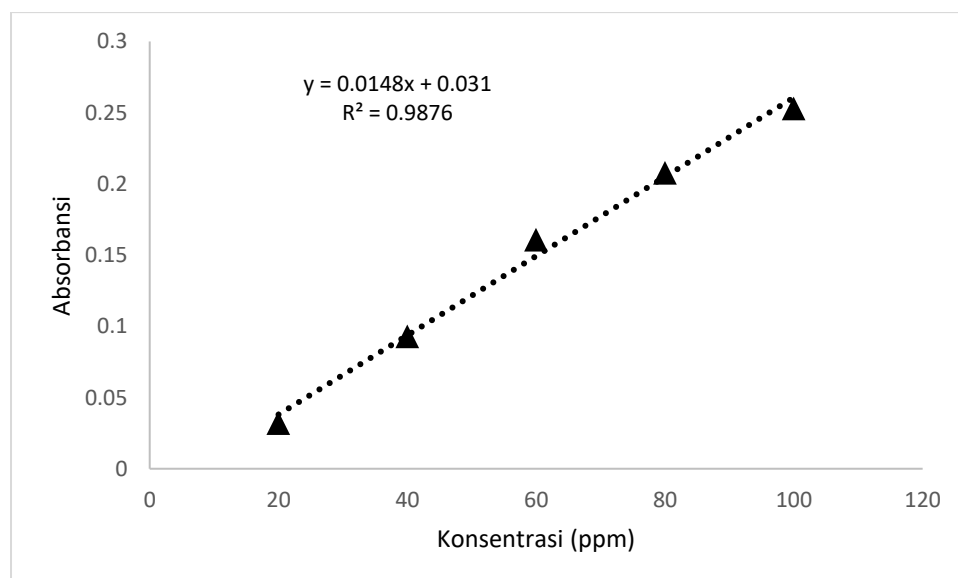
$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 60 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V1 = 6 \text{ mL}$$

Glukosa dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 ppm diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, nilai absorbansinya ditunjukkan pada Tabel 6.1

Tabel 6.1 Data Absorbansi Glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,2127
20	0,2891
30	0,4464
40	0,6561
50	0,7881
60	0,9101



Gambar 6.1 Kurva Standar Glukosa

7. Analisis Kadar Gula Total pada Eksopolisakarida

Kadar gula total eksopolisakarida dilakukan dengan menimbang 0,01 mg EPS dilarutkan pada akuades 250 mL. Kemudian diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan fenol 5% sebanyak 2 mL dan asam sulfat pekat sebanyak 5 mL. Kemudian dipanaskan dengan penangas air mendidih selama 15 menit. Kemudian dihitung absorbansi gula total menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Data hasil absorbansi gula total eksopolisakarida ditunjukkan pada Tabel 7.1.

Tabel 7.1 Nilai Absorbansi Eksopolisakarida

Sampel	Ulangan 1	Absorbansi	
		Ulangan 2	Ulangan 3
Eksopolisakarida	0,5179	0,6057	0,6001

Data absorbansi eksopolisakarida dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar glukosa $y = 0,01484 \cdot x + 0,03101$ dengan y adalah absorbansi eksopolisakarida dan x adalah konsentrasi gula yang terkandung dalam eksopolisakarida. Nilai konsentrasi dihitung sebagai berikut

Ulangan I

$$y = 0,01484 \cdot x + 0,03101$$

$$0,5719 = 0,01484 \cdot x + 0,03101$$

$$x = \frac{0,5719 - 0,03101}{0,01484}$$

$$x = 36,4481$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi analisa} &= \frac{10 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}} \\ &= 40 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Gula (\%)} &= \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100 \\ &= \frac{36,4481}{40} \times 100 \\ (\%) &= 91,12 \% \end{aligned}$$

Ulangan 2

$$\begin{aligned} y &= 0,01484 \cdot x + 0,03101 \\ 0,6057 &= 0,01484 \cdot x + 0,03101 \\ x &= \frac{0,6057 - 0,03101}{0,01484} \\ x &= 38,7257 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi analisa} &= \frac{10 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}} \\ &= 40 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Gula (\%)} &= \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100 \\ &= \frac{38,7257}{40} \times 100 \\ (\%) &= 96,81 \% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$\begin{aligned} y &= 0,01484 \cdot x + 0,03101 \\ 0,6001 &= 0,01484 \cdot x + 0,03101 \\ x &= \frac{0,6001 - 0,03101}{0,01484} \\ x &= 38,3483 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi analisa} &= \frac{10 \text{ mg}}{0,25 \text{ L}} \\ &= 40 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Gula (\%)} &= \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100 \\ &= \frac{38,3483}{40} \times 100 \\ (\%) &= 95,87 \% \end{aligned}$$

Kadar gula total eksopolisakarida dapat dilihat pada tabel 7.2

Tabel 7.2 Kadar gula total eksopolisakarida

Sampel	Kadar gula total (%)			Rata-rata (%)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Eksopolisakarida	91, 12 (%)	96,81 (%)	95,87 (%)	94,6 (%)

8. Analisa Kadar Protein Eksopolisakarida

Kadar protein dilakukan dengan menimbang 0,02 g eksopolisakarida dilarutkan pada akuades 5 mL. Kemudian diambil 1 mL eksopolisakarida dan ditambahkan 5 mL reagen lowry, divorteks dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,5 mL folin 1 N, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit,, kemudian diukur absorbansinya pada λ 660 nm.. Data hasil absobansi gula total eksopolisakarida ditunjukkan pada Tabel 8.1

Tabel 8.1 Nilai Absorbansi Eksopolisakarida

Sampel	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
Eksopolisakarida	0,2225	0,1789	0,1450

Data absorbansi eksopolisakarida dimasukkan ke dalam persamaan regesi dari kurva standar BSA $y = 0,00278x - 0,01758$ dengan y adalah absorbansi eksopolisakarida dan x adalah konsentrasi BSA yang terkandung dalam eksopolisakarida. Nilai konsentrasi dihitung sebagai berikut,

Ulangan 1

$$y = 0,00278x - 0,01758$$

$$0,2225 = 0,00278x - 0,01758$$

$$x = \frac{0,2225 + 0,01758}{0,00278}$$

$$x = 86,35 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi analisa} &= \frac{20 \text{ mg}}{0,005 \text{ L}} \\ &= 4000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Protein (\%)} &= \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100 \\ &= \frac{86,35 \text{ ppm}}{4000 \text{ ppm}} \times 100 \\ &= 2,158\% \end{aligned}$$

Ulangan 2

$$y = 0,00278x - 0,01758$$

$$0,1789 = 0,00278x - 0,01758$$

$$x = \frac{0,1789 + 0,01758}{0,00278}$$

$$x = 70,67 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi analisa} &= \frac{20 \text{ mg}}{0,005 \text{ L}} \\ &= 4000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Protein (\%)} &= \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100 \\ &= \frac{70,67 \text{ ppm}}{4000 \text{ ppm}} \times 100 \\ &= 1,766\% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$y = 0,00278x - 0,01758$$

$$0,1450 = 0,00278x - 0,01758$$

$$x = \frac{0,1450 + 0,01758}{0,00278}$$

$$x = 58,48 \text{ ppm}$$

$$\text{konsentrasi analisa} = \frac{20 \text{ mg}}{0,005 \text{ L}}$$

$$= 4000 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{\text{konsentrasi kurva}}{\text{konsentrasi analisa}} \times 100$$

$$= \frac{58,48 \text{ ppm}}{4000 \text{ ppm}} \times 100$$

$$= 1,462\%$$

Lampiran 4. Hasil Analisis SPSS

4.4 Hasil Analisis Aktivitas Antibakteri

Ulangan 1,2,3 dan 4

ANOVA

Zona hambat dalam satuan mm

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.752	4	7.188	12.626	0.000
Within Groups	8.539	15	0.569		
Total	37.291	19			

Descriptives

Zona hambat dalam satuan mm

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
konsentrasi 0.3125	4	1.9625	0.31458	0.15729	1.4619	2.4631	1.50	2.20
konsentrasi 0.625	4	2.6500	0.42426	0.21213	1.9749	3.3251	2.35	3.25
konsentrasi 1.25	4	3.8500	1.02713	0.51357	2.2156	5.4844	2.95	5.30

konsentrasi 2.5	4	4.6750	0.71937	0.3596 9	3.5303	5.8197	3.75	5.50
konsentrasi 5	4	5.1500	0.99750	0.4987 5	3.5628	6.7372	3.85	6.05
Total	20	3.6575	1.40097	0.3132 7	3.0018	4.3132	1.50	6.05

Zona hambatan dalam satuan mm

Tukey HSD^a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
konsentrasi 0.3125	4	1.9625		
konsentrasi 0.625	4	2.6500	2.6500	
konsentrasi 1.25	4		3.8500	3.8500
konsentrasi 2.5	4			4.6750
konsentrasi 5	4			5.1500
Sig.		0.702	0.215	0.159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 0.3125	konsentrasi 0.625	-0.68750	0.53352	0.702	-2.3350	0.9600
	konsentrasi 1.25	-1.88750*	0.53352	0.021	-3.5350	-0.2400
	konsentrasi 2.5	-2.71250*	0.53352	0.001	-4.3600	-1.0650
	konsentrasi 5	-3.18750*	0.53352	0.000	-4.8350	-1.5400
konsentrasi 0.625 0.3125	konsentrasi 0.3125	0.68750	0.53352	0.702	-0.9600	2.3350
	konsentrasi 1.25	-1.20000	0.53352	0.215	-2.8475	0.4475
	konsentrasi 2.5	-2.02500*	0.53352	0.013	-3.6725	-0.3775
	konsentrasi 5	-2.50000*	0.53352	0.002	-4.1475	-0.8525
konsentrasi 1.25	konsentrasi 0.3125	1.88750*	0.53352	0.021	0.2400	3.5350
	konsentrasi 0.625	1.20000	0.53352	0.215	-0.4475	2.8475
	konsentrasi 2.5	-0.82500	0.53352	0.551	-2.4725	0.8225
	konsentrasi 5	-1.30000	0.53352	0.159	-2.9475	0.3475
konsentrasi 2.5	konsentrasi 0.3125	2.71250*	0.53352	0.001	1.0650	4.3600
	konsentrasi 0.625	2.02500*	0.53352	0.013	0.3775	3.6725
	konsentrasi 1.25	0.82500	0.53352	0.551	-0.8225	2.4725
	konsentrasi 5	-0.47500	0.53352	0.896	-2.1225	1.1725
konsentrasi 5	konsentrasi 0.3125	3.18750*	0.53352	0.000	1.5400	4.8350
	konsentrasi 0.625	2.50000*	0.53352	0.002	0.8525	4.1475
	konsentrasi 1.25	1.30000	0.53352	0.159	-0.3475	2.9475
	konsentrasi 2.5	0.47500	0.53352	0.896	-1.1725	2.1225

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

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Ulangan 1,3,2 dan 4

ANOVA

Zona hambat dalam satuan ppm

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Goups	29.059	4	7.265	12.789	0.000
Within Goups	8.521	15	0.568		
Total	37.579	19			

Descriptives

Zona hambat dalam satuan ppm

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
konsentrasi 0.3125	4	1.9400	0.30452	0.15226	1.4554	2.4246	1.50	2.20
konsentrasi 0.625	4	2.6500	0.42426	0.21213	1.9749	3.3251	2.35	3.25
konsentrasi 1.25	4	3.8500	1.02713	0.51357	2.2156	5.4844	2.95	5.30
konsentrasi 2.5	4	4.6750	0.71937	0.35969	3.5303	5.8197	3.75	5.50
konsentrasi 5	4	5.1500	0.99750	0.49875	3.5628	6.7372	3.85	6.05
Total	20	3.6530	1.40637	0.31447	2.9948	4.3112	1.50	6.05

Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
konsentrasi 0.3125	4	1.9400		
konsentrasi 0.625	4	2.6500	2.6500	
konsentrasi 1.25	4		3.8500	3.8500
konsentrasi 2.5	4			4.6750
konsentrasi 5	4			5.1500
Sig.		0.677	0.214	0.158

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 0.3125	konsentrasi 0.625	-0.68750	0.53352	0.702	-2.3350	0.9600
	konsentrasi 1.25	-1.88750*	0.53352	0.021	-3.5350	-0.2400
	konsentrasi 2.5	-2.71250*	0.53352	0.001	-4.3600	-1.0650
	konsentrasi 5	-3.18750*	0.53352	0.000	-4.8350	-1.5400
konsentrasi 0.625	konsentrasi 0.3125	0.68750	0.53352	0.702	-0.9600	2.3350
	konsentrasi 1.25	-1.20000	0.53352	0.215	-2.8475	0.4475
	konsentrasi 2.5	-2.02500*	0.53352	0.013	-3.6725	-0.3775
	konsentrasi 5	-2.50000*	0.53352	0.002	-4.1475	-0.8525
konsentrasi 1.25	konsentrasi 0.3125	1.88750*	0.53352	0.021	0.2400	3.5350
	konsentrasi 0.625	1.20000	0.53352	0.215	-0.4475	2.8475
	konsentrasi 2.5	-0.82500	0.53352	0.551	-2.4725	0.8225
	konsentrasi 5	-1.30000	0.53352	0.159	-2.9475	0.3475
konsentrasi 2.5	konsentrasi 0.3125	2.71250*	0.53352	0.001	1.0650	4.3600
	konsentrasi 0.625	2.02500*	0.53352	0.013	0.3775	3.6725
	konsentrasi 1.25	0.82500	0.53352	0.551	-0.8225	2.4725
	konsentrasi 5	-0.47500	0.53352	0.896	-2.1225	1.1725
konsentrasi 5	konsentrasi 0.3125	3.18750*	0.53352	0.000	1.5400	4.8350
	konsentrasi 0.625	2.50000*	0.53352	0.002	0.8525	4.1475
	konsentrasi 1.25	1.30000	0.53352	0.159	-0.3475	2.9475
	konsentrasi 2.5	0.47500	0.53352	0.896	-1.1725	2.1225

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

Ulangan 2,3,4 dan 1

ANOVA

Zona hambat dalam satuan ppm

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Goups	28.854	4	7.214	12.650	0.000
Within Goups	8.554	15	0.570		
Total	37.408	19			

Descriptives

Zona hambat dalam satuan ppm

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
konsentrasi 0.3125	4	1.9625	0.31458	0.15729	1.4619	2.4631	1.50	2.20
konsentrasi 0.625	4	2.6500	0.42426	0.21213	1.9749	3.3251	2.35	3.25
konsentrasi 1.25	4	3.8500	1.02713	0.51357	2.2156	5.4844	2.95	5.30
konsentrasi 2.5	4	4.6875	0.72270	0.36135	3.5375	5.8375	3.75	5.50
konsentrasi 5	4	5.1500	0.99750	0.49875	3.5628	6.7372	3.85	6.05
Total	20	3.6600	1.40315	0.31375	3.0033	4.3167	1.50	6.05

Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD^a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
konsentrasi 0.3125	4	1.9625		
konsentrasi 0.625	4	2.6500	2.6500	
konsentrasi 1.25	4		3.8500	3.8500
konsentrasi 2.5	4			4.6875
konsentrasi 5	4			5.1500
Sig.		0.702	0.216	0.159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 0.3125	konsentrasi 0.625	-0.83750	0.53679	0.542	-2.4951	0.8201
	konsentrasi 1.25	-2.03750*	0.53679	0.013	-3.6951	-0.3799
	konsentrasi 2.5	-2.86250*	0.53679	0.001	-4.5201	-1.2049
	konsentrasi 5	-3.33750*	0.53679	0.000	-4.9951	-1.6799
konsentrasi 0.625	konsentrasi 0.3125	0.83750	0.53679	0.542	-0.8201	2.4951
	konsentrasi 1.25	-1.20000	0.53679	0.220	-2.8576	0.4576
	konsentrasi 2.5	-2.02500*	0.53679	0.014	-3.6826	-0.3674
	konsentrasi 5	-2.50000*	0.53679	0.002	-4.1576	-0.8424
konsentrasi 1.25	konsentrasi 0.3125	2.03750*	0.53679	0.013	0.3799	3.6951
	konsentrasi 0.625	1.20000	0.53679	0.220	-0.4576	2.8576
	konsentrasi 2.5	-0.82500	0.53679	0.556	-2.4826	0.8326
	konsentrasi 5	-1.30000	0.53679	0.163	-2.9576	0.3576
konsentrasi 2.5	konsentrasi 0.3125	2.86250*	0.53679	0.001	1.2049	4.5201
	konsentrasi 0.625	2.02500*	0.53679	0.014	0.3674	3.6826
	konsentrasi 1.25	0.82500	0.53679	0.556	-0.8326	2.4826
	konsentrasi 5	-0.47500	0.53679	0.898	-2.1326	1.1826
konsentrasi 5	konsentrasi 0.3125	3.33750*	0.53679	0.000	1.6799	4.9951
	konsentrasi 0.625	2.50000*	0.53679	0.002	0.8424	4.1576
	konsentrasi 1.25	1.30000	0.53679	0.163	-0.3576	2.9576
	konsentrasi 2.5	0.47500	0.53679	0.898	-1.1826	2.1326

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

Ulangan 2,4,3 dan 1

ANOVA

Zona hambat dalam satuan ppm

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.858	4	7.715	13.386	0.000
Within Groups	8.644	15	0.576		
Total	39.502	19			

Descriptives

Zona hambat dalam satuan ppm

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
konsentrasi 0.3125	4	1.8125	0.36600	0.18300	1.2301	2.3949	1.50	2.20
konsentrasi 0.625	4	2.6500	0.42426	0.21213	1.9749	3.3251	2.35	3.25
konsentrasi 1.25	4	3.8500	1.02713	0.51357	2.2156	5.4844	2.95	5.30
konsentrasi 2.5	4	4.6750	0.71937	0.35969	3.5303	5.8197	3.75	5.50
konsentrasi 5	4	5.1500	0.99750	0.49875	3.5628	6.7372	3.85	6.05
Total	20	3.6275	1.44190	0.32242	2.9527	4.3023	1.50	6.05

Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD^a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
konsentrasi 0.3125	4	1.8125		
konsentrasi 0.625	4	2.6500	2.6500	
konsentrasi 1.25	4		3.8500	3.8500
konsentrasi 2.5	4			4.6750
konsentrasi 5	4			5.1500
Sig.		0.542	0.220	0.163

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona hambat dalam satuan ppm

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 0.3125	konsentrasi 0.625	-0.83750	0.53679	0.542	-2.4951	0.8201
	konsentrasi 1.25	-2.03750*	0.53679	0.013	-3.6951	-0.3799
	konsentrasi 2.5	-2.86250*	0.53679	0.001	-4.5201	-1.2049
	konsentrasi 5	-3.33750*	0.53679	0.000	-4.9951	-1.6799
konsentrasi 0.625	konsentrasi 0.3125	0.83750	0.53679	0.542	-0.8201	2.4951
	konsentrasi 1.25	-1.20000	0.53679	0.220	-2.8576	0.4576
	konsentrasi 2.5	-2.02500*	0.53679	0.014	-3.6826	-0.3674
	konsentrasi 5	-2.50000*	0.53679	0.002	-4.1576	-0.8424
konsentrasi 1.25	konsentrasi 0.3125	2.03750*	0.53679	0.013	0.3799	3.6951
	konsentrasi 0.625	1.20000	0.53679	0.220	-0.4576	2.8576
	konsentrasi 2.5	-0.82500	0.53679	0.556	-2.4826	0.8326
	konsentrasi 5	-1.30000	0.53679	0.163	-2.9576	0.3576
konsentrasi 2.5	konsentrasi 0.3125	2.86250*	0.53679	0.001	1.2049	4.5201
	konsentrasi 0.625	2.02500*	0.53679	0.014	0.3674	3.6826
	konsentrasi 1.25	0.82500	0.53679	0.556	-0.8326	2.4826
	konsentrasi 5	-0.47500	0.53679	0.898	-2.1326	1.1826
konsentrasi 5	konsentrasi 0.3125	3.33750*	0.53679	0.000	1.6799	4.9951
	konsentrasi 0.625	2.50000*	0.53679	0.002	0.8424	4.1576
	konsentrasi 1.25	1.30000	0.53679	0.163	-0.3576	2.9576
	konsentrasi 2.5	0.47500	0.53679	0.898	-1.1826	2.1326

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

Lampiran 5. Dokumentasi



Regenerasi *W. confusa*



OD 0,5 inokulum *W. confusa*



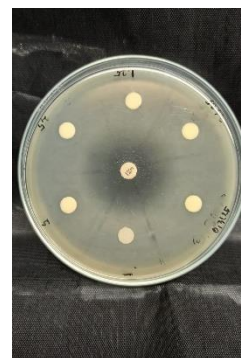
Media hasil fermentasi



Pengendapan eksopolisakarida dengan penambahan etanol dingin



Eksopolisakarida kering



Aktivitas antibakteri

Lampiran 6 Keterangan Tambahan

1. Komposisi Media MRSA, MRSB, MHA, MHB dan Na

a. Kadar MRSA dan MRSB (g/L)

Komposisi MRSA	Komposisi MRSB
pepton protease 10 g	pepton protease 10 g
<i>beef extract</i> 10 g	<i>beef extract</i> 10 g
<i>yeast extract</i> 5 g	<i>yeast extract</i> 5 g
dekstrosa 20 g	dekstrosa 20 g
ammonium sitrat 2 g	ammonium sitrat 2 g
polisorbat 80 1 g	polisorbat 80 1 g
magnesium sulfat 0,1 g	magnesium sulfat 0,1 g
sodium asetat 5 g	sodium asetat 5 g
mangan sulfat 0,05 g	mangan sulfat 0,05 g
dipotassium fosfat 2 g	dipotassium fosfat 2 g
agar 15 g	

b. Kadar MHA, MHB dan Na(g/L)

Komposisi MHA	Komposisi MHB	Komposisi Na
Beef dehydrate infusion 300 g	Beef infusion 2 g	Pepton 5 g
Casein hydrolysate 17.5 g	Casein hydrolysate 17.5 g	<i>Beef extract</i> 3 g
Starch 1.5 g	Starch 1.5 g	Agar 15 g
Agar 15 g		