

**AKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PENGHASIL
BAKTERIOSIN DARI LIMBAH CAIR TAHU DALAM MENGHAMBAT
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

Oleh:

**KHARISMA NAFISAH PUTRI
NIM. 210602110135**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**AKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PENGHASIL
BAKTERIOSIN DARI LIMBAH CAIR TAHU DALAM MENGHAMBAT
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

Oleh:

**KHARISMA NAFISAH PUTRI
NIM. 210602110135**

Diajukan Kepada:

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

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Kharisma Nafisah Putri
NIM : 210602110135
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 18 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Ir. Liliek Harianie A.R., M.P

()

Pembimbing II : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

()

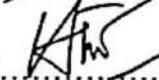
Tim Penguji : Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si

(Ketua)

()

: Dr. Muhammad Saefi, M.Pd

(Anggota)

()



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”. Dengan penuh rasa syukur skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Pintu surgaku, (Almh) Ibu yang selalu penulis rindukan dan cintai, yang membersamai proses perkuliahan hanya dua semester, semoga Ibu melihat putri kecilnya dari tempat terbaik di sisi-Nya. Skripsi ini penulis persembahkan sebagai wujud bakti dan cinta kasih kepada Ibu.
2. Ayahanda tercinta, sosok pertama yang menyambut kehadiran penulis ke dunia dengan penuh kebahagiaan. Terima kasih atas kepercayaan yang selalu diberikan, doa, dukungan, motivasi, serta selalu berusaha memberikan yang terbaik. Semoga Allah SWT. senantiasa melimpahkan kesehatan dan keberkahan dalam hidup Ayah.
3. Kakak kandung dan kakak ipar tercinta, terima kasih yang tulus penulis sampaikan atas doa, dukungan, dan motivasi yang senantiasa diberikan, serta selalu meluangkan waktu untuk menjadi pendengar yang baik.
4. Sahabat-sahabat penulis, Inayah, Intan, Suci, Uswatun, Ericha, Muthi'ah, Silvi, Anin, Ananda, Aulitul, Tiara, dan Andhini yang selalu memberikan dukungan, doa, motivasi, dan bantuan dalam keadaan suka maupun duka.
5. Teman-teman Beta class dan Newcleus angkatan 2021, penulis ucapkan terima kasih atas kebersamaan, canda tawa, serta dukungan yang telah mewarnai perjalanan selama perkuliahan hingga meraih gelar sarjana Biologi.
6. Seluruh pihak yang telah membantu, serta menemani selama penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT. senantiasa melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya. Aamiin.

7. Risma, terima kasih karena telah berusaha keras dan berjuang sejauh ini untuk menyelesaikan apa yang telah dipilih dan dimulai. Terima kasih telah mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan di luar keadaan dan tetap tidak menyerah, meskipun proses penyusunan skripsi ini tidak mudah. Semoga langkah ini menjadi awal dari perjalanan yang lebih baik di masa yang akan datang.

Semoga segala kebaikan yang diberikan oleh beberapa pihak tersebut kepada penulis mendapatkan balasan kebaikan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menjadi langkah awal bagi penulis untuk terus belajar, berkembang, dan memberikan kontribusi yang lebih baik di masa yang akan datang.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

MOTTO

“Allah memang tidak menjanjikan hidupmu akan selalu mudah, tapi dua kali Allah berjanji bahwa: Fa inna ma’al-usri Yusra, inna ma’al-‘usri Yusra”.

(QS. Al-Insyirah 94: 5-6)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kharisma Nafisah Putri
NIM : 210602110135
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil
Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat
Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

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

Malang, 11 Mei 2026

Yang membuat pernyataan,



Kharisma Nafisah Putri

NIM. 210602110135

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Kharisma Nafisah Putri, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRAK

Limbah cair tahu yang kaya bahan organik berpotensi dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL), sehingga penelitian ini bertujuan mengidentifikasi genus BAL hasil isolasi dari limbah cair tahu, menguji aktivitas antibakteri bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan rancangan faktorial dua faktor dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu variasi konsentrasi bakteriosin (0%, 25%, 50%, 75% dan 100%), serta jenis bakteri uji. Data dianalisis menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis dan uji lanjut Pairwise Comparisons. Isolasi dilakukan menggunakan media selektif MRSA dengan penambahan CaCO_3 , dilanjutkan dengan karakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram dan metode dilusi untuk menentukan nilai KHM dan KBM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga isolat BAL (LT1, LT2, dan LT4) memiliki karakteristik koloni bulat, tepi rata, berwarna putih susu, Gram positif, berbentuk batang, katalase negatif, dan pola fermentasi homofermentatif, sehingga diduga teridentifikasi sebagai genus *Lactobacillus*. Bakteriosin yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat terbesar masing-masing 4,45 mm dan 7,35 mm. Isolat BAL dari limbah cair tahu yang teridentifikasi sebagai genus *Lactobacillus* menghasilkan bakteriosin yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, meskipun nilai KHM dan KBM belum dapat ditentukan.

Kata kunci: bakteri asam laktat, bakteriosin, limbah cair tahu, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Activity of Lactic Acid Bacteria as Bacteriocin Producers from Tofu Liquid Waste in Inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Kharisma Nafisah Putri, Liliek Harianie, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRACT

Tofu liquid waste which is rich in organic materials has the potential to be used as a growth medium for lactic acid bacteria (LAB), so this study aims to identify the LAB genus isolated from tofu liquid waste, test the antibacterial activity of bacteriocins against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, and determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) values. The study was conducted experimentally with a two-factor factorial design in a Completely Randomized Design (CRD), namely variations in bacteriocin concentration (0%, 25%, 50%, 75% and 100%), and the type of test bacteria. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis nonparametric test and Pairwise Comparisons further test. Isolation was carried out using MRSA selective media with the addition of CaCO₃, followed by macroscopic, microscopic characterization, and biochemical tests. Antibacterial activity was tested using the disc diffusion method and the dilution method to determine the MIC and MBC values. The results showed that three LAB isolates (LT1, LT2, and LT4) had round colonies, flat edges, milky white, Gram-positive, rod-shaped, catalase-negative, and homofermentative fermentation patterns, so they were suspected to be identified as the *Lactobacillus* genus. The bacteriocins produced were able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with the largest inhibition zone diameters of 4.45 mm and 7.35 mm, respectively. LAB isolates from tofu liquid waste identified as the *Lactobacillus* genus produced bacteriocins that had the potential to be antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, although the MIC and MBC values could not be determined yet.

Keywords: lactic acid bacteria, bacteriocin, tofu liquid waste, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

نشاط بكتيريا حمض اللاكتيك كمنتج للبكتريوسين من مياه الصرف الناتجة عن صناعة التوفو في تثبيط *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* بكتيريا

خريزمة نافيساه بوتري، ليليك هارياني، محمد مخلص فهد الدين
قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانغ

الملخص

تُعد مياه الصرف السائلة الناتجة عن صناعة التوفو والغنية بالمواد العضوية وسطاً واعداً لنمو بكتيريا حمض اللاكتيك، ولذلك هدفت هذه الدراسة إلى التعرف على جنس بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من مياه الصرف *Staphylococcus aureus* السائلة للتوفو، واختبار النشاط المضاد للبكتيريا للبكتريوسين المنتج ضد التركيز القاتل (MIC)، بالإضافة إلى تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى *Pseudomonas aeruginosa* وأجريت الدراسة بطريقة تجريبية باستخدام تصميم عاملي ثنائي العوامل ضمن التصميم (MBC) الأدنى، وهما اختلاف تركيز البكتريوسين (0%، 25%، 50%، 75%، و100%) ونوع (CRD) العشوائي الكامل البكتيريا المختبرة. تم تحليل البيانات باستخدام اختبار كروسكال-واليس اللامعلمي واختبار المقارنات الثنائية الانتقائي مع إضافة MRSA أجريت عملية العزل باستخدام وسط (Pairwise Comparisons)، تلتها عملية التوصيف المظهري والميكروسكوبي والاختبارات الكيميائية الحيوية. كما تم اختبار CaCO_3 ، MIC و MBC. النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار الأقراص وطريقة التخفيف لتحديد قيمتي امتلاك خصائص (LT4 و LT2 و LT1) أظهرت النتائج أن ثلاثة عزلات من بكتيريا حمض اللاكتيك مستعمرات دائرية ذات حواف منتظمة ولون أبيض حليبي، وكانت موجبة لصيغة غرام، عصوية الشكل، مما يشير إلى انتمائها إلى جنس (Homofermentative) سالبة لاختبار الكاتالاز، وذات نمط تخمر متماثل *Staphylococcus aureus* كما أظهر البكتريوسين المنتج قدرة على تثبيط نمو *Lactobacillus* بأكبر أقطار لمناطق التثبيط بلغت 4.45 مم و 7.35 مم على التوالي. *Pseudomonas aeruginosa* وتُظهر نتائج الدراسة أن عزلات بكتيريا حمض اللاكتيك من مياه الصرف السائلة للتوفو، والمُعَرَّفة على أنها *Staphylococcus aureus*، تُنتج بكتريوسيناً يمتلك إمكانات واعدة كمضاد للبكتيريا ضد *Lactobacillus* من جنس MIC و MBC، على الرغم من عدم التمكن من تحديد قيمتي *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus*.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، بكتريوسين، مياه الصرف الناتجة عن صناعة التوفو، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. atas limpahan nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”. Shalawat dan salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak, penulis menyampaikan terima kasih khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nurdiana, M.Si., CAHRM., CRMP selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. H. Agus Mulyono, S.Pd., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie, A. R., M.P. dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku pembimbing yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga naskah skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Fitriyah, S.Si., M.Si. selaku Dosen wali yang telah membimbing, memberikan semangat dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh Dosen dan Laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, arahan, dan dedikasi selama proses penelitian dan perkuliahan.

7. Orang tua, kakak, dan seluruh keluarga yang telah memberikan doa, dukungan, dan motivasi kepada penulis.

Semoga segala ilmu serta kebaikan yang telah diberikan kepada penulis memperoleh balasan pahala dan keberkahan dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan belum sepenuhnya sempurna, sehingga saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan guna perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap materi yang telah dikaji dalam skripsi ini memberikan manfaat bagi para pembaca.
Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 11 Mei 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
الملخص	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Hipotesis Penelitian.....	8
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.6 Batasan Masalah.....	9
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 11
2.1 Limbah Cair Tahu	11
2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)	14
2.2.1 Lactobacillus	16
2.2.2 Streptococcus	16
2.2.3 Pediococcus	17
2.2.4 Leuconostoc	18
2.3 Peranan Bakteri Asam Laktat (BAL)	18
2.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)	19
2.5 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)	20
2.5.1 Pewarnaan Gram	21
2.5.2 Pewarnaan Endospora	22
2.5.3 Uji Katalase.....	22
2.5.4 Fermentasi Asam Laktat	23
2.5.5 Toleransi pH Bakteri Asam Laktat	23
2.6 Bakteriosin	24
2.6.1 Klasifikasi Bakteriosin.....	25
2.6.2 Produksi Bakteriosin.....	28
2.6.3 Mekanisme Kerja Bakteriosin	29
2.6.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri	31

2.6.5 Aktivitas Antibakteri Bakteriosin	33
2.6.5.1 Metode Difusi Cakram	33
2.6.5.2 Metode Dilusi	34
2.7 Bakteri sebagai Pembusuk	36
2.7.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	36
2.7.2 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
2.8 Media Selektif MRSA dan MRSB	39
2.9 Peranan Mikroorganisme dalam Perspektif Islam	39
BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	44
3.2 Variabel Penelitian	44
3.3 Waktu dan Tempat	45
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	45
3.4.1 Alat	45
3.4.2 Bahan	45
3.5 Prosedur Penelitian	46
3.5.1 Preparasi Sampel	46
3.5.2 Sterilisasi Alat	46
3.5.3 Pembuatan Media	46
3.5.3.1 Media MRSA dan MRSB	46
3.5.3.2 Media MHA dan MHB	47
3.5.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat	47
3.5.5 Pemurnian dan Penyimpanan Isolat Bakteri Asam Laktat	48
3.5.6 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat	48
3.5.6.1 Pengamatan Makroskopis	48
3.5.6.2 Pengamatan Mikroskopis	48
3.5.6.2.1 Pewarnaan Gram	48
3.5.6.2.2 Pewarnaan Endospora	49
3.5.6.3 Uji Biokimia	50
3.5.6.3.1 Uji Katalase	50
3.5.6.3.2 Uji Tipe Fermentasi	51
3.5.6.3.3 Uji Ketahanan pH	51
3.5.7 Produksi Bakteriosin dan Pembuatan Inokulum	51
3.5.7.1 Pembuatan Inokulum (Kultur Aktif)	51
3.5.7.2 Produksi Bakteriosin	52
3.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteriosin	53
3.5.8.1 Pembuatan Variasi Konsentrasi	53
3.5.8.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	53
3.5.8.3 Uji Difusi Cakram	54
3.5.8.4 Uji Konsentrasi Hambat Minimum dan Bunuh Minimum	55
3.6 Teknik Analisis Data	56
3.7 Alur Penelitian	57
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	58
4.1 Karakteristik BAL dari Limbah Cair Tahu	58
4.2 Uji Aktivitas Bakteriosin	70

4.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Bakteriosin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	82
4.4 Kajian Integrasi Islam mengenai Aktivitas Bakteriosin Limbah Cair Tahu terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	87
BAB V PENUTUP	91
5.1 Kesimpulan	91
5.2 Saran.....	92
DAFTAR PUSTAKA	93
LAMPIRAN	115

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Golongan Bahan Penggumpal Tahu	12
3.1 Perhitungan Volume Ekstrak Bakteriosin dan NaCl 0,9%	53
4.1 Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri dari Limbah Cair Tahu.....	59
4.2 Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat pada Berbagai Kondisi pH.....	68
4.3 Kategori Zona Hambat.....	71
4.4 Diameter Zona Hambat Bakteriosin Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	73
4.5 Hasil Uji Kruskal-Wallis Diameter Zona Hambat Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	74
4.6 Diameter Zona Hambat Bakteriosin Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76
4.7 Hasil Uji Kruskal-Wallis Diameter Zona Hambat Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77
4.8 Hasil Uji KHM Bakteriosin Isolat LT1S dan LT1P terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
3.1 Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	55
4.1 Isolat Bakteri dari Limbah Cair Tahu yang Terbentuk Zona Bening di Sekitar Koloni Bakteri.....	58
4.2 Hasil Pewarnaan Gram	61
4.3 Hasil Pewarnaan Endospora	63
4.4 Hasil Uji Katalase	64
4.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi.....	66
4.6 Hasil Uji Zona Hambat	72
4.7 Hasil Uji KHM Bakteriosin Isolat LT1S dan LT1P terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	82
4.8 Hasil Uji KBM terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1.	Konsentrasi larutan bakteriosin.....115
Lampiran 2.	Hasil Uji Antibakteri bakteriosin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>116
Lampiran 3.	Hasil Uji KHM Bakteriosin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>117
Lampiran 4.	Analisis Data Uji Antibakteri Bakteriosin Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>118
Lampiran 5.	Analisis Data Uji Antibakteri Bakteriosin Isolat Limbah Cair Tahu terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>120
Lampiran 6.	Dokumentasi Penelitian122
Lampiran 7.	Dokumentasi Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>127
Lampiran 8.	Dokumentasi Hasil Uji KBM terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>129
Lampiran 9.	Komposisi Media131

DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
BAL	Bakteri Asam Laktat
BOD	Biological Oxygen Demand
CaCO ₃	Kalsium karbonat
CFU/mL	Colony Forming Unit per mililiter
COD	Chemical Oxygen Demand
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
kDA	kiloDalton
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
MRS	de Man, Rogosa, and Sharpe
MRSA	de Mann Rogosa Sharpe Agar
MRSB	de Mann Rogosa Sharpe Broth
MHA	Mueller-Hilton Agar
MHB	Mueller-Hilton Broth
NaCl	Natrium klorida
pH	potential of hydrogen (derajat keasaman)
PMF	Proton Motif Force
rpm	revolutions per minute
μL	mikroliter
μm	mikrometer
°C	derajat celcius

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tahu adalah produk pangan berbahan utama *Glycine* sp. yang dihasilkan melalui proses koagulasi atau proses pengendapan protein yang dapat dilakukan dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diperbolehkan (Badan Standardisasi Nasional, 1998). Industri tahu berkembang pesat di Indonesia seiring dengan tingginya konsumsi masyarakat terhadap produk olahan kedelai. Selain menghasilkan produk utama berupa tahu, proses produksinya juga menghasilkan limbah dalam bentuk padatan maupun cairan (Khairunnissa dkk., 2020).

Limbah padat produksi tahu umumnya berasal dari tahap pembersihan kedelai, seperti kotoran berupa kerikil, tanah, kulit kedelai, dan residu penyaringan *slurry* kedelai yang dikenal sebagai ampas tahu (Hardayani dkk., 2023). Sementara itu, *whey* tahu berasal dari tahapan pencucian, perebusan, hingga tahapan pencetakan tahu yang menghasilkan cairan kental berwarna kuning dan terpisah dari gumpalan protein tahu (dadih) (Rojali dkk., 2023). Limbah cair merupakan komponen terbesar dari proses produksi tahu, namun pemanfaatannya masih terbatas dan seringkali dialirkan ke perairan tanpa proses pengolahan sebelumnya, sehingga berpotensi menyebabkan pencemaran (Wulan dkk., 2024).

Limbah cair tahu mengandung berbagai zat terlarut dan tersuspensi yang dapat mengalami perubahan fisik, kimia, maupun biologis sehingga berpotensi menghasilkan senyawa toksik serta mendukung pertumbuhan mikroorganisme patogen. Apabila tidak melalui proses pengolahan, limbah cair tahu cenderung mengalami perubahan warna menjadi cokelat kehitaman, menimbulkan bau menyengat dan berpotensi menyebabkan gangguan pernapasan. Selain itu, paparan

limbah tersebut berpotensi menyebabkan berbagai gangguan kesehatan, di antaranya iritasi kulit, gatal-gatal, dan diare (PUSIDO, Badan Standardisasi Nasional, 2012 dalam Putri dkk., 2020).

Dalam perspektif Islam, pemanfaatan sumber daya secara optimal dan berkelanjutan merupakan salah satu bentuk tanggung jawab manusia sebagai khalifah di bumi. Sebagaimana firman Allah dalam QS: Al-A'raf [7]: 56,

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ
مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

Artinya: “Janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah diatur dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat dengan orang-orang yang berbuat baik.” (QS: Al-A'raf [7]: 56) (Kemenag, 2019).

Nilai-nilai ajaran Islam menegaskan bahwa manusia sebagai khalifah di bumi memiliki tanggung jawab untuk menjaga dan memanfaatkan sumber daya yang telah diciptakan Allah SWT. secara bijaksana serta tidak melakukan kerusakan (*fasad*) (Tafsir Lengkap Kemenag, 2019). Secara filosofis, ayat ini mengajarkan konsep *ishlah* (perbaikan), yaitu upaya mengoptimalkan potensi sumber daya agar memberikan manfaat yang lebih besar bagi kehidupan (Marhayuni & Faizi, 2022). Dalam penelitian ini, limbah cair tahu yang masih mengandung senyawa organik berpotensi dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat penghasil bakteriosin (Syafira, 2024). Dengan demikian, pemanfaatan limbah cair tahu sebagai sumber agen antibakteri alami merupakan implementasi nilai *ishlah* dalam Islam melalui pengembangan ilmu pengetahuan yang berorientasi pada kemanfaatan dan keberlanjutan.

Limbah cair tahu merupakan salah satu limbah industri pangan yang dihasilkan dalam jumlah besar selama proses produksi tahu (Hutabarat dkk., 2022).

Penelitian Hutabarat dkk. (2022) menunjukkan bahwa proses produksi tahu pada dua pabrik menghasilkan limbah cair sebesar 2603,2 kg dan 1145,43 kg. Limbah cair tahu mengandung berbagai senyawa organik, seperti protein, karbohidrat, dan lemak yang berasal dari bahan baku kedelai serta proses pengolahannya (Marlina dkk., 2023). Kandungan organik yang tinggi tersebut menjadikan limbah cair tahu berpotensi dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme, termasuk bakteri yang memiliki nilai fungsional (Juariah & Sari, 2018). Meskipun demikian, apabila tidak dikelola dengan baik, senyawa organik dalam limbah cair tahu dapat mengalami dekomposisi dan berpotensi mengganggu keseimbangan ekosistem perairan (Alifah dkk., 2024).

Kadar senyawa organik dalam limbah cair tahu relatif tinggi, sementara kandungan anorganiknya lebih rendah (Alifah dkk., 2024). Pernyataan ini selaras dengan penelitian Syafira (2024) yang menyebutkan bahwa *whey* tahu berpotensi dijadikan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri karena mengandung nutrisi penting, seperti 40-60% protein, 25-50% karbohidrat, 10% lemak, serta nutrisi lainnya, seperti N, K₂O, P₂O₅, dan karbon organik. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa limbah cair tahu mampu mendukung pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dengan konsentrasi 10% sebagai kondisi paling optimal karena menghasilkan pertumbuhan koloni tercepat (Syafira, 2024).

Tingginya kandungan nutrisi menyebabkan nilai *Biological Oxygen Demand* (BOD) meningkat hingga berkisar 5.000-10.000 mg/L. Selain itu, nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD) berada pada rentang 7.000-10.000 mg/L dengan pH relatif asam, yaitu sekitar 4-5 (Haerun dkk., 2018). Kondisi tersebut mendukung terbentuknya media yang optimal bagi pertumbuhan bakteri asam laktat, sehingga

limbah cair tahu berpotensi dimanfaatkan sebagai media fermentasi alami (Jonathan, 2025).

Bakteri asam laktat tergolong mikroorganisme *food grade* yang aman untuk pangan, karena bersifat tidak beracun maupun patogen, serta telah diklasifikasikan sebagai *generally recognized as safe* (GRAS) (Setiarto, 2021). Selain itu, BAL mampu memproduksi berbagai senyawa antimikroba, di antaranya asam asetat, H₂O₂, reutin, diasetil, serta protein spesifik berupa bakteriosin (Firdaus dkk., 2020). Berdasarkan penelitian Karyawati dkk. (2024), sebanyak 14 isolat BAL berhasil diisolasi dari limbah cair tahu. Seluruh isolat mampu tumbuh pada media selektif MRS Agar, bersifat Gram positif, dan menunjukkan hasil katalase negatif. Selain itu, isolat tersebut memiliki tipe fermentasi heterofermentatif yang ditandai oleh perubahan warna media, terbentuknya gelembung gas, serta produksi metabolit berupa asam laktat, etanol, asam asetat, dan CO₂. Hal ini menunjukkan bahwa limbah cair tahu berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber untuk memperoleh isolat bakteri asam laktat.

Selain menghasilkan asam organik sebagai produk metabolisme, BAL juga juga mampu memproduksi bakteriosin, yaitu peptida antimikroba yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen. Bakteriosin yang dihasilkan BAL memiliki spektrum aktivitas yang luas, termasuk terhadap genus *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus*, dan *Enterococcus* (Dewi dkk., 2022). Selain bakteriosin, asam laktat dan asam asetat sebagai metabolit utama BAL juga berperan sebagai senyawa antimikroba dengan mekanisme menurunkan pH lingkungan, sehingga mampu menghambat pertumbuhan dan viabilitas bakteri patogen (Meiyasa, 2020).

Bakteriosin adalah senyawa berupa protein atau peptida yang diproduksi secara ribosomal oleh BAL. Senyawa ini umumnya bersifat bakteriostatik, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang memiliki hubungan kekerabatan dekat. Selain itu, beberapa jenis bakteriosin juga menunjukkan efek bakterisidal terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Nurraifah dkk., 2021).

Berdasarkan karakteristik tersebut, bakteriosin berpotensi dimanfaatkan sebagai biopreservatif karena efektif dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen pada produk pangan. Penggunaan pengawet alami ini dinilai lebih aman dibandingkan pengawet kimia yang berisiko menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan, seperti keracunan, kerusakan jaringan tubuh, hingga bersifat karsinogenik (Gaffar & Suryani, 2023; Cholifah dkk., 2017). Sejalan dengan hal tersebut, Yulvizar dkk. (2023) menegaskan bahwa pengawetan alami mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, serta mengurangi penggunaan pengawet kimia.

Bakteriosin memiliki keunggulan sebagai biopreservatif pangan karena sifatnya yang aman, tidak beracun, mudah terdegradasi oleh enzim pencernaan, stabil terhadap variasi suhu maupun kondisi keasaman (pH), serta tidak memengaruhi rasa dan aroma pada produk pangan (Fatimah dkk., 2020). Pemanfaatan bakteriosin tidak hanya meningkatkan daya tahan produk, tetapi juga menjaga keamanan pangan melalui penghambatan pertumbuhan bakteri patogen (Nurhayati dkk., 2024). Metabolit yang dihasilkan oleh BAL, termasuk bakteriosin, umumnya dilakukan pada beberapa variasi konsentrasi untuk mengetahui pengaruh peningkatan dosis terhadap aktivitas antibakterinya. Penelitian Amir dkk. (2024) menunjukkan bahwa penggunaan empat variasi konsentrasi (0%, 25%, 50%, dan

100%) pada media fermentasi limbah cair tahu dapat meningkatkan produksi metabolit oleh *Lactobacillus acidophilus* yang mendukung pendekatan serupa dalam pengujian efektivitas bakteriosin.

Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan mikroorganisme patogen yang sering dijumpai pada berbagai lingkungan, seperti udara, partikel halus, media perairan, alat makan, serta pada manusia dan hewan (Gunawan dkk., 2022). Kedua bakteri ini berpotensi menyebabkan infeksi kulit ringan, infeksi sistemik, serta mencemari bahan pangan (Purba *et al.*, 2022). Kontaminasi oleh *S. aureus* dan *P. aeruginosa* tidak hanya mempercepat pembusukan produk, tetapi juga menimbulkan risiko kesehatan akibat toksin yang dihasilkan. Meskipun proses pemanasan dan pendinginan dapat membunuh sel bakteri, enterotoksin yang diproduksi tetap aktif karena tahan terhadap suhu tinggi dan proses penyimpanan (BPOM, 2012).

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif dengan kemampuan menghasilkan enterotoksin tahan terhadap pemanasan. Enterotoksin tetap stabil pada suhu 100°C dengan durasi 30 menit meskipun sel bakterinya telah mengalami kematian (Gunawan dkk., 2022; Wattimury dkk., 2024). Keberadaan toksin ini menjadi penyebab utama gangguan pencernaan, seperti mual, diare, dan nyeri perut akibat konsumsi makanan yang terkontaminasi (Rahayu dkk., 2024).

Sementara itu, *Pseudomonas aeruginosa* termasuk flora normal yang dapat dijumpai dalam jumlah terbatas pada area kulit serta saluran pencernaan manusia. Bakteri ini hidup sebagai saprofit pada kondisi fisiologis normal, namun dapat menjadi patogen oportunistik ketika sistem imun individu melemah (Utami, 2023). *Pseudomonas aeruginosa* juga termasuk bakteri Gram negatif yang berperan

sebagai agen pembusukan pangan melalui aktivitas enzim protease, sehingga mampu mendegradasi komponen protein, lemak, dan karbohidrat pada berbagai sumber pangan hewani, seperti telur, daging, dan ikan (Nasri dkk., 2023; Sari dkk., 2024).

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, penelitian ini berfokus pada aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL hasil isolasi dari *whey* tahu dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua bakteri tersebut dipilih sebagai bakteri uji karena dikenal sebagai penyebab infeksi patogen dan agen pembusuk pangan. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan mampu menjadi upaya alternatif dalam optimalisasi pemanfaatan limbah cair tahu, serta kontribusi ilmiah dalam pengembangan agen antibakteri alami yang aman.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik genus bakteri asam laktat yang ada dalam limbah cair tahu?
2. Apakah bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dari limbah cair tahu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
3. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mengidentifikasi genus bakteri asam laktat yang terdapat dalam limbah cair tahu.
2. Menganalisis bakteri asam laktat yang terdapat pada limbah cair tahu dapat menghasilkan bakteriosin sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari bakteriosin terhadap kedua bakteri uji.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari limbah cair tahu dan memiliki karakteristik genus tertentu.
2. Bakteriosin yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat dari limbah cair tahu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat.
3. Terdapat konsentrasi tertentu dari bakteriosin yang efektif sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap kedua bakteri uji.

1.5 Manfaat Penelitian

- a. Manfaat teoritis

Manfaat teoritis penelitian ini adalah:

1. Menyajikan informasi ilmiah mengenai karakteristik bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari limbah cair tahu.

2. Mendukung pengembangan kajian ilmiah di bidang mikrobiologi, khususnya terkait potensi bakteriosin yang dihasilkan BAL sebagai agen antibakteri alami.

b. Manfaat praktis

Manfaat praktis penelitian ini adalah:

1. Menyajikan alternatif pemanfaatan limbah cair tahu sebagai sumber isolat BAL penghasil bakteriosin yang bernilai guna dan ramah lingkungan.
2. Mendukung pengembangan pemanfaatan bakteriosin sebagai antibakteri alami yang berpotensi diaplikasikan pada bidang pangan dan bioteknologi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Limbah cair tahu yang digunakan merupakan cairan kental hasil pemisahan dadih pada proses pembuatan tahu yang diperoleh dari produsen tahu di Desa Ngenep, Kecamatan Karang Ploso, Kabupaten Malang.
2. Bakteri asam laktat yang diisolasi diidentifikasi melalui karakteristik makroskopis berdasarkan morfologi koloni, serta mikroskopis melalui pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, dan serangkaian uji biokimia meliputi uji katalase, tipe fermentasi, ketahanan pH, dan antibakteri, termasuk uji KHM dan KBM.
3. Isolasi bakteri asam laktat dilakukan melalui metode pengenceran bertingkat dengan teknik *spread plate* pada media MRSA untuk isolasi padat dan MRSB untuk kultur cair.
4. Karakterisasi bakteri asam laktat mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 1994.

5. Bakteri uji berupa *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Malang.
6. Bakteriosin yang diuji pada penelitian ini berupa ekstrak kasar bakteriosin.
7. Parameter yang diamati, yaitu uji antibakteri, serta uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Cair Tahu

Tahu merupakan produk hasil pengolahan kedelai yang diperoleh melalui proses fermentasi dengan cara diambil sarinya (Admojo & Jabir, 2023). Tahu memiliki kandungan gizi tinggi serta harga yang terjangkau, sehingga termasuk sebagai sumber protein nabati yang populer serta banyak dikonsumsi oleh masyarakat, termasuk di Indonesia (Wahyudi, 2022). Badan Pusat Statistik (BPS) melaporkan bahwa rata-rata konsumsi tahu per kapita di Indonesia pada tahun 2024 mencapai 0,148 kilogram per minggu (Badan Pusat Statistik, 2023). Hal ini menunjukkan bahwa tahu merupakan sumber protein nabati yang penting, selain tempe (Maulana dkk., 2024). Produksi tahu di Indonesia umumnya dilakukan oleh usaha kecil dan menengah (UKM) menggunakan metode sederhana dan sebagian masih mengandalkan tenaga kerja manusia (Erawati dkk., 2024).

Seiring dengan meningkatnya produksi tahu, proses pembuatannya meliputi berbagai tahapan, seperti perendaman, pembersihan, penggilingan, serta perebusan kedelai, penyaringan, pengendapan, hingga penambahan asam cuka (Murdianto dkk., 2023). Produk yang dihasilkan umumnya memiliki kandungan air sekitar 70-90%, protein 5-15%, lemak 48%, karbohidrat 25%, serta berbagai nutrisi penting lainnya, seperti kalori, mineral, fosfor, tiamin, kalium, riboflavin, vitamin E, vitamin B12, dan vitamin B kompleks. Kualitas tahu yang baik ditentukan oleh faktor organoleptik, meliputi tekstur, bentuk, rasa, dan aroma, sehingga mutu produk sangat bergantung pada proses pengolahannya (Suarti dkk., 2023).

Menurut Seftiono (2016), proses pengendapan dan pencetakan tahu merupakan tahap penting yang melibatkan pengendapan susu kedelai dengan

bantuan koagulan berupa asam dan garam. Jenis-jenis koagulan yang umum digunakan tercantum pada Tabel 2.1 (Dewi dkk., 2022). Selain menghasilkan tahu sebagai produk utama, proses tersebut juga menghasilkan *whey* yang mengandung senyawa organik, seperti nitrogen (7,61%), gula total (0,32%), gula pereduksi (0,09%), serta mineral. Tingginya kandungan organik menyebabkan limbah cair tahu berpotensi menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, berbeda dengan sumber nitrogen sintetik, seperti pepton, ekstrak ragi, NH_4NO_3 , dan KNO_3 (Anggraini *et al.*, 2019).

Tabel 2.1. Golongan bahan penggumpal tahu

Golongan	Jenis yang umum digunakan
Garam klorida (<i>nigari</i>)	Nigari alami, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, air laut, CaCl_2 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Garam sulfat	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Lakton	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$ (glukono- δ -lakton)/ GDL
Asam	Asam laktat, sari buah jeruk, asam asetat, cuka (larutan asam asetat 4%)

Sumber: Dewi dkk., 2022

Limbah cair tahu juga kaya akan senyawa organik, berupa protein, lemak, dan karbohidrat (Marlina dkk., 2023). Karbohidrat dalam limbah tersebut dapat dimetabolisme oleh BAL melalui fermentasi untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk utama. Selain menurunkan pH, proses fermentasi ini juga berpotensi menghasilkan bakteriosin yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Felix dkk., 2024).

Industri tahu sebagai salah satu usaha pengolahan kedelai turut menghasilkan limbah sebagai produk samping berupa limbah padat dan limbah cair

(Kawuwung dkk., 2024). Limbah padat seperti ampas tahu, umumnya dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau bahan baku pembuatan oncom. Sementara itu, proses perendaman, penggumpalan, serta pencetakan dalam produksi tahu menghasilkan limbah cair berwarna kekuningan yang pemanfaatannya masih terbatas. Jika tidak dikelola secara tepat, limbah tersebut berpotensi mencemari lingkungan, terutama ekosistem perairan (Lolo dkk., 2021).

Menurut Samsudin dkk. (2018), limbah cair dari tahapan pengolahan tahu berasal dari sisa air pembersihan, perendaman, serta perebusan kedelai. Limbah ini berpotensi mencemari lingkungan apabila dialirkan langsung ke badan sungai, karena memiliki kandungan bahan organik yang tinggi (Setyawan dkk., 2025). Bahan organik yang tidak diolah akan mengalami proses pembusukan yang menghasilkan bau tidak sedap akibat degradasi protein serta senyawa organik lainnya. Selain mengganggu kenyamanan, bau tersebut juga berpotensi mengganggu kesehatan, khususnya fungsi indera penciuman (Samsudin dkk., 2018).

Proses produksi tahu menghasilkan limbah cair dengan jumlah yang relatif lebih tinggi dibandingkan limbah padat. Setiap satu ton kacang kedelai yang diolah dapat menghasilkan 30.000-40.000 liter limbah cair (Dhahiyat, 1990 dalam Setyawan dkk., 2025). Tingginya volume limbah cair tersebut tidak hanya berisiko mencemari lingkungan, melainkan juga berpotensi menjadi sumber mikroba yang potensial. Mikroba proteolitik *indigenous* yang terdapat dalam *whey* tahu dapat berperan sebagai agen biokonveksi yang efektif dalam menurunkan kadar polutan, serta mampu meningkatkan nilai ekonomi (Dutta *et al.*, 2016). Menurut Harahap dkk. (2021), sebagai mikroorganisme prokariotik, bakteri hidup secara berkoloni

dan tersebar di berbagai lingkungan, termasuk pada limbah cair hasil produksi tahu yang menjadi habitat bakteri asam laktat.

2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) diklasifikasikan sebagai bakteri Gram positif berbentuk *basil* dan *coccus* yang tidak memiliki kemampuan membentuk spora. BAL memiliki karakteristik sebagai mikroorganisme anaerob fakultatif tanpa sitokrom, tidak mampu mereduksi nitrat, serta menunjukkan sifat oksidase dan katalase negatif dengan motilitas yang rendah (Rasyid dkk., 2021). Selain itu, BAL memiliki kemampuan utama mengonversi glukosa maupun senyawa kompleks lainnya menjadi asam laktat melalui proses fermentasi. Fermentasi tersebut menghasilkan senyawa yang lebih sederhana serta berperan penting dalam berbagai aplikasi bioteknologi (Fadila dkk., 2024).

Bakteri asam laktat tergolong mikroorganisme *food grade* yang aman dimanfaatkan dalam industri pangan (Afriani dkk., 2017), terutama pada proses fermentasi. BAL secara alami berada pada saluran pencernaan manusia maupun hewan, memiliki kemampuan menurunkan pH lingkungan, serta memiliki beragam manfaat untuk kesehatan (Jannah *et al.*, 2021). Beragam spesies BAL berasal dari berbagai genus, seperti *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus*. Selain itu, genus lain seperti *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weisella* turut berperan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir fermentasi, baik sebagai metabolit primer maupun sekunder (Prihanto dkk., 2021).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme mesofilik yang mampu tumbuh pada rentang suhu 5-45°C, meskipun beberapa strain bersifat termofilik.

BAL diketahui mampu menghasilkan enzim protease yang berperan menghidrolisis protein sesuai kebutuhan asam amino tertentu, serta dapat bertahan pada kondisi asam hingga pH sekitar 3,8 (Forsythe, 2007 dalam Utami dkk., 2021). Selain karakteristik fisiologis tersebut, beberapa genus BAL juga memproduksi senyawa antibakteri, seperti hidrogen peroksida serta bakteriosin. Senyawa-senyawa ini efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen, secara *in vitro* dapat diamati melalui terbentuknya zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri (Delfahedah *et al.*, 2013 dalam Tulasi dkk., 2024).

Bakteri asam laktat dapat diklasifikasikan menjadi dua tipe utama, berdasarkan produk fermentasi karbohidrat yang dihasilkan, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif (Amalia dkk., 2024). BAL homofermentatif, seperti *Lactococcus* dan *Streptococcus*, mampu mengonversi sekitar 95% glukosa maupun heksosa lain menjadi asam laktat, disertai pembentukan karbon dioksida dan asam volatil. Sementara itu, BAL heterofermentatif, seperti *Leuconostoc*, *Wiessella*, dan beberapa jenis *Lactobacillus* menghasilkan berbagai produk fermentasi, yaitu asam laktat, asam asetat, etanol, serta karbon dioksida dari satu molekul glukosa (Fachrial dkk., 2022).

Genus *Lactobacillus* adalah salah satu jenis BAL yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri. Genus ini berperan penting sebagai probiotik, serta dalam produksi asam laktat dan bakteriosin (Hidayat dkk., 2018). Selain itu, beberapa genus BAL seperti *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc* umum dimanfaatkan sebagai kultur starter dalam fermentasi pangan dan minuman, serta efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Ismawati dkk., 2024).

2.2.1 *Lactobacillus*

Genus *Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora, bersifat non-motil, serta tergolong anaerob fakultatif dengan toleransi terhadap NaCl sekitar 3-7%. Sel *Lactobacillus* berbentuk batang (basil), dengan beberapa spesies tersusun dalam rantai pendek (Sulmiyati *et al.*, 2018). Genus ini mampu bertahan pada kondisi asam hingga pH di bawah 4 (Aini dkk., 2021). *Lactobacillus* tergolong BAL bersifat heterogen, terdiri dari 173 spesies dan 17 subspecies (Inglin *et al.*, 2018).

Lactobacillus memiliki keunggulan sebagai agen probiotik karena kemampuannya bertahan terhadap garam empedu dan lingkungan dengan pH rendah. Bakteri ini juga mampu menghasilkan senyawa antibakteri yang berperan dalam melawan bakteri patogen di saluran pencernaan. *Lactobacillus* juga diketahui bersifat menghambat pertumbuhan patogen enterik (Hidayat dkk., 2018).

Beberapa spesies *Lactobacillus* mampu menekan pertumbuhan berbagai bakteri patogen, seperti *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Shigella*, dan *Listeria* melalui produksi bakteriosin, seperti asidolin, asidofilin, dan laktosidin. Senyawa tersebut memiliki efektivitas terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Hidayat dkk., 2018). Spesies *Lactobacillus* yang umum berperan sebagai probiotik, antara lain *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. cellobiosus*, *L. farmicinis*, *L. curvatus*, *L. johnsonii*, dan *L. reuteri* (Widodo, 2019).

2.2.2 *Streptococcus*

Genus *Streptococcus* adalah salah satu kelompok BAL yang tergolong Gram positif dengan bentuk sel *coccus*. Genus ini bersifat anaerob fakultatif, non-motil,

serta tidak menghasilkan gas (Permatasari dkk., 2022). Menurut Lee *et al.* (2022), *Streptococcus* terdiri atas 188 spesies yang tercatat dalam *List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature* (LPSN). Beberapa spesies *Streptococcus* telah dimanfaatkan dalam proses fermentasi produk pangan dan minuman, antara lain *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, serta *S. intermedius* (Hidayat dkk., 2018).

2.2.3 *Pediococcus*

Genus *Pediococcus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk *coccus*, tidak membentuk spora, dan bersifat non-motil (Susilowati dkk., 2022). Berbeda dengan genus kokus lainnya, *Pediococcus* membentuk susunan sel berbentuk tetrad dan tidak menghasilkan gas (Guhar *et al.*, 2024). Bakteri ini termasuk dalam kelompok BAL karena mampu menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir metabolisme karbohidratnya (Susilowati dkk., 2022). Selain itu, *Pediococcus* diketahui menghasilkan bakteriosin berupa peptida antimikroba yang berpotensi diaplikasikan dalam industri pangan maupun kesehatan (Todorov *et al.*, 2023).

Pediococcus bersifat anaerob fakultatif dan membutuhkan lingkungan kaya nutrisi, faktor pertumbuhan, serta gula sebagai substrat fermentasi. Sebagai bakteri homofermentatif, *Pediococcus* hanya menghasilkan asam laktat dan tidak memanfaatkan pentosa sebagai sumber karbon. Genus ini tumbuh optimal pada pH sekitar 6 dengan rentang suhu 25-30°C. Toleransi terhadap oksigen, pH, suhu, antibiotik, serta konsentrasi garam (NaCl) bervariasi antarspesies dan galur *Pediococcus*, sedangkan pada beberapa galur juga ditemukan plasmid yang mengode gen fermentasi karbohidrat dan produksi bakteriosin (Setiarto, 2020).

2.2.4 *Leuconostoc*

Leuconostoc merupakan genus bakteri Gram positif berbentuk kokus, umumnya tersusun membentuk rantai pendek, serta tergolong sebagai BAL yang berperan dalam proses fermentasi pangan (Ismawati dkk., 2024). Genus ini dapat ditemukan di berbagai habitat, seperti jaringan tumbuhan, sumber klinis manusia, serta berbagai produk fermentasi, termasuk daging, sayuran fermentasi, dan produk susu, seperti keju (Moon *et al.*, 2023). *Leuconostoc* tidak membentuk tetrad, bersifat katalase negatif, dan mampu memfermentasi gula menjadi asam asetat, asam laktat, etanol, serta karbon dioksida. Genus ini juga menunjukkan aktivitas enzim proteolitik yang berperan dalam menguraikan protein. Suhu optimum pertumbuhan bakteri ini berada pada kisaran 25-30°C (Putri dkk., 2023), meskipun beberapa spesies masih mampu tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C (Ruppitsch *et al.*, 2021).

2.3 Peranan Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat berperan penting dalam industri pangan maupun kesehatan, sehingga digolongkan sebagai kelompok bakteri yang bersifat menguntungkan. BAL secara luas dimanfaatkan sebagai kultur starter dalam berbagai proses fermentasi, termasuk pada produk daging, susu, sayuran, serta roti (Setiarto, 2021). BAL dalam industri pangan digunakan sebagai agen biopreservatif yang berfungsi menggantikan bahan pengawet kimia untuk memperpanjang masa simpan produk (Hasanah & Wahid, 2025).

Secara fisiologis, BAL menghasilkan berbagai asam organik dan metabolit primer selama proses fermentasi. Senyawa-senyawa tersebut selain berperan sebagai pengawet alami, juga berkontribusi terhadap pembentukan cita rasa dan

aroma khas produk pangan. Aktivitas metabolik BAL menyebabkan penurunan pH lingkungan melalui sekresi senyawa antibakteri, salah satunya bakteriosin yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Firmansyah dkk., 2021).

Bakteri asam laktat memiliki peluang yang tinggi dalam pengembangan pangan fungsional, khususnya sebagai komponen utama pada produk probiotik (Siagian dkk., 2024). Menurut Felix dkk. (2024), BAL memiliki peran penting dalam mendukung kesehatan manusia melalui berbagai efek terapeutik, antara lain membantu mengatasi intoleransi laktosa, menurunkan kadar kolesterol darah, serta mencegah terjadinya kanker usus besar. Selain itu, BAL berkontribusi dalam mempertahankan keseimbangan mikrobiota usus melalui penghambatan pertumbuhan bakteri patogen yang dapat mengganggu fungsi sistem pencernaan (Setiarto, 2021).

2.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi mikroba adalah suatu metode yang bertujuan untuk memperoleh kultur murni melalui pemisahan satu jenis mikroorganisme dari campuran yang terdiri atas berbagai spesies lainnya (Yasir dkk., 2024). Proses tersebut dilakukan dengan menumbuhkan mikroba pada media padat, sehingga sel mikroba dapat membentuk koloni yang bersifat menetap, serta terpisah dari koloni mikroba lain (Taib dkk., 2023). Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam proses isolasi mikroba, meliputi karakteristik mikroba yang diisolasi, habitat asal, kesesuaian media pertumbuhan, teknik inokulasi, kondisi inkubasi, serta metode pengujian kultur murni yang disesuaikan dengan tujuan analisis (Jufri, 2020).

Berbagai jenis media dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroba, dengan pemilihan media yang disesuaikan terhadap jenis mikroorganisme yang akan

dikultur. BAL umumnya menunjukkan pertumbuhan optimal pada media spesifik MRS Agar (Siagian dkk., 2024). Penelitian Sari dkk. (2016) menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni pada media tersebut mengindikasikan efektivitas MRSA dalam mendukung pertumbuhan BAL, meliputi genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*.

Pertumbuhan BAL pada media MRS yang mengandung CaCO_3 dapat diamati melalui terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Pembentukan zona bening tersebut menunjukkan adanya reaksi antara CaCO_3 dan asam laktat hasil fermentasi yang menghasilkan kalsium laktat (Amalia *et al.*, 2024). Selain berfungsi sebagai indikator pertumbuhan, CaCO_3 menurut Gudisa & Yenasew (2022) juga berperan sebagai buffer yang menjaga kestabilan pH media, sehingga kondisi lingkungan tetap optimal bagi pertumbuhan dan seleksi isolat penghasil asam laktat. Pendekatan tersebut mendukung proses identifikasi dan seleksi isolat BAL dengan kemampuan fermentasi tinggi, serta potensi produksi senyawa bioaktif yang bermanfaat dalam pengembangan produk probiotik maupun antibakteri alami.

2.5 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Karakterisasi merupakan tahapan awal dalam menentukan jenis bakteri yang dapat dilakukan melalui pendekatan konvensional maupun modern. Metode konvensional, meliputi pengamatan morfologi serta serangkaian uji biokimia, sedangkan metode modern menggunakan pendekatan berbasis molekuler (Yuka dkk., 2021). Pengamatan morfologi merupakan tahapan penting karena karakteristik koloni dapat digunakan sebagai indikator awal dalam proses mengidentifikasi bakteri (Holderman dkk., 2017). Koloni diamati secara visual

untuk mendeskripsikan ciri utamanya, seperti bentuk, ukuran, tepi, permukaan, dan warna (Sari & Mustakim, 2025). Data hasil pengamatan tersebut kemudian dianalisis berdasarkan kriteria yang tercantum dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

Identifikasi lebih lanjut dilakukan secara mikroskopis melalui pewarnaan Gram untuk menentukan karakter Gram dan bentuk sel. BAL umumnya tergolong Gram positif dengan bentuk sel batang maupun bulat. Identifikasi fisiologis isolat selanjutnya dikonfirmasi melalui beberapa pengujian biokimia, seperti uji katalase, fermentasi gula, serta toleransi terhadap pH. Pengujian katalase digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim katalase. BAL bersifat katalase negatif karena tidak menghasilkan gelembung setelah penambahan larutan H_2O_2 3%. Uji fermentasi gula dilakukan menggunakan media cair yang mengandung berbagai jenis gula dengan indikator pH; perubahan warna menjadi kuning menandakan terbentuknya asam hasil fermentasi. Sementara itu, uji toleransi pH dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media dengan variasi pH tertentu (2, 5, 7, dan 9) untuk mengetahui kemampuan pertumbuhannya pada kondisi asam maupun netral (Sari & Mustakim, 2025).

2.5.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan metode utama dalam klasifikasi bakteri berdasarkan perbedaan struktur dan komposisi dinding sel. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan dinding sel bakteri mempertahankan pewarna kristal violet setelah proses pencucian menggunakan alkohol (Nurmailah dkk., 2024). Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal tanpa membran luar, sehingga mampu mempertahankan warna kristal violet dan tampak berwarna

ungu saat diamati di bawah mikroskop. Berbeda dengan bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis serta membran luar yang menyebabkan warna kristal violet mudah terlepas selama proses dekolorisasi. Setelah pewarnaan lanjutan dengan safranin, bakteri Gram negatif akan tampak berwarna merah (Sirajuddin dkk., 2025).

2.5.2 Pewarnaan endospora

Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam membentuk endospora, yaitu struktur pelindung yang memungkinkan bakteri bertahan pada kondisi lingkungan ekstrem. Prinsip pewarnaan endospora didasarkan pada perbedaan kemampuan endospora dan sel vegetatif dalam menyerap zat warna. Endospora diwarnai menggunakan *Malachite green*, sedangkan sel vegetatif diberi pewarna kontras safranin untuk mempermudah identifikasi morfologi sel (Kembuan dkk., 2024). Salah satu ciri utama BAL adalah ketidakmampuannya membentuk endospora yang ditunjukkan oleh sel vegetatif tampak berwarna merah muda mengindikasikan hasil negatif (Ramadhani dkk., 2024).

2.5.3 Uji katalase

Uji katalase berperan dalam mengidentifikasi kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta menentukan tingkat toleransinya terhadap oksigen. Isolat yang bersifat katalase negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas setelah penambahan larutan H_2O_2 pada koloni (Susilowati dkk., 2022). Sebaliknya, munculnya gelembung gas menandakan adanya aktivitas enzim katalase yang mampu memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Irma dkk., 2022). Enzim katalase pada bakteri umumnya berfungsi sebagai mekanisme pertahanan

terhadap toksisitas H_2O_2 yang terbentuk selama proses metabolisme (Susilowati dkk., 2022).

Bakteri asam laktat umumnya bersifat katalase negatif karena tidak memproduksi enzim katalase untuk menguraikan H_2O_2 . Berbeda dengan sebagian besar bakteri anaerob, pertumbuhan BAL berlangsung optimal pada kondisi bersifat aerob maupun anaerob. Meskipun tumbuh pada kondisi aerob, BAL tetap menunjukkan hasil katalase negatif yang mengindikasikan bahwa BAL menggunakan enzim peroksidase sebagai mekanisme alternatif dalam detoksifikasi hidrogen peroksida (Laila dkk., 2024).

2.5.4 Fermentasi asam laktat

Bakteri asam laktat diklasifikasikan ke dalam dua jenis tipe fermentasi, antara lain homofermentatif dan heterofermentatif (Rahmadi, 2019). BAL homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi sementara asam asetat dan karbon dioksida terbentuk sebagai produk sampingan dalam jumlah relatif kecil. Kelompok BAL homofermentatif, meliputi *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa spesies *Lactobacillus* (Tulasi dkk., 2024). Berbeda dengan homofermentatif, BAL heterofermentatif menghasilkan asam laktat dalam jumlah lebih rendah disertai pembentukan senyawa lain, seperti etanol, asam asetat, dan asam format (Rahmadi, 2019). Beberapa genus yang tergolong BAL heterofermentatif, di antaranya *Leuconostoc* serta beberapa spesies *Lactobacillus* (Tulasi dkk., 2024).

2.5.5 Toleransi pH bakteri asam laktat (BAL)

Uji ketahanan pH digunakan untuk mengetahui kemampuan BAL dalam beradaptasi terhadap variasi tingkat keasaman lingkungan (Ayun dkk., 2023).

Aktivitas metabolisme BAL menghasilkan berbagai senyawa organik, terutama asam laktat dan asam asetat sebagai hasil fermentasi karbohidrat. Senyawa tersebut berperan dalam menurunkan pH media, serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dan pembusuk (Felix dkk., 2024). Ketahanan BAL terhadap kondisi pH rendah merupakan indikator penting dalam menentukan potensi antagonistiknya, karena senyawa antimikroba seperti asam organik, bakteriosin, serta hidrogen peroksida menunjukkan aktivitas optimal pada kondisi tersebut (Fachrial dkk., 2022).

2.6 Bakteriosin

Bakteri asam laktat (BAL) memfermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama (Manalu & Pardosi, 2024). Selain asam laktat, BAL juga menghasilkan berbagai metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa tersebut, meliputi asam organik, H_2O_2 , diasetil, serta bakteriosin, yaitu protein spesifik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Bazaraa *et al.*, 2019).

Bakteriosin merupakan peptida yang aman bagi manusia dan hewan karena mudah terdegradasi oleh enzim proteolitik dalam tubuh, sehingga tidak mengganggu mikroflora usus dan tetap aman bagi mikroorganisme yang bermanfaat di saluran pencernaan (Ambarwati & Ibrahim, 2021). Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL memiliki sifat bakterisidal terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Nurraifah dkk., 2021). Beberapa genus BAL yang diketahui mampu memproduksi bakteriosin, di antaranya *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, serta *Propionibacterium* (Setiarto, 2021).

Bakteriosin memiliki peranan penting dalam industri pangan, terutama pada produk fermentasi, karena mampu menekan pertumbuhan bakteri perusak pangan dan patogen penyebab keracunan makanan (*foodborne disease*), serta memperpanjang umur simpan produk (Fadila dkk., 2022). Sebagai pengawet alami, bakteriosin menawarkan alternatif pengganti bahan kimia, terutama pada produk yang mudah rusak akibat kontaminasi mikroba (Meysari *et al.*, 2025). Kelebihan bakteriosin sebagai pengawet alami meliputi kemampuan menurunkan penggunaan bahan kimia, fleksibilitas penggunaan, serta ketahanan terhadap variasi pH dan suhu, sehingga tetap efektif pada berbagai kondisi pengolahan makanan, termasuk lingkungan asam, basa, maupun suhu ekstrem (Cleveland *et al.*, 2001 dalam Nurraifah dkk., 2021).

2.6.1 Klasifikasi bakteriosin

Klasifikasi awal bakteriosin terdiri atas empat kelas. Namun, kelas keempat yang terdiri atas kompleks besar mengandung karbohidrat dan lipid telah direvisi menjadi bakteriosilin, meliputi leukonosin S dan laktosin 27. Secara umum, klasifikasi bakteriosin diklasifikasikan kembali menjadi tiga kelas sebagai berikut (Kumariya *et al.*, 2019):

1. Bakteriosin kelas I (lantibiotik)

Lantibiotik yang tergolong dalam bakteriosin kelas I merupakan peptida berukuran kecil sekitar 2-5 kDA yang bersifat tahan terhadap suhu panas dan kondisi pH ekstrem. Bakteriosin ini dihasilkan oleh bakteri Gram positif dan tersusun atas 37-42 residu asam amino (Suryani, 2021). Menurut Kumariya *et al.* (2019), lantibiotik mengalami modifikasi pascatranslasi sehingga menghasilkan asam amino non-standar, seperti lantionin,

dehidrobutirin, dehidroalanin, β -metillantionin, dan labirintin. Berdasarkan karakteristiknya, lantibiotik dibedakan menjadi dua subkelas, antara lain tipe I-A dan tipe I-B (Suryani, 2021).

Tipe I-A lantibiotik merupakan peptida antimikroba yang dihasilkan oleh BAL Gram positif melalui sintesis ribosom selama proses fermentasi. Contoh subkelas ini adalah nisin yang efektif mencegah pembusukan makanan karena kemampuannya menghambat pertumbuhan patogen bawaan makanan, seperti *Staphylococcus aureus* (Suryani, 2021). Sedangkan tipe I-B lantibiotik memiliki struktur tetrasiklik dan efektif melawan bakteri patogen Gram positif. Contoh subkelas I-B adalah mersacidin yang digunakan pada produk susu, biofarmasi, serta kosmetik (Suryani, 2021).

2. Bakteriosin kelas II (peptida kecil termotabil)

Bakteriosin kelas II adalah peptida non-lantibiotik berukuran kurang dari 10 kDA, bersifat stabil terhadap suhu panas, tidak mengandung lantionin (Fachrial dkk., 2022), dan tersusun atas sekitar 30-70 residu asam amino. Bakteriosin ini bekerja dengan berinteraksi pada membran sel bakteri patogen Gram positif, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Suryani, 2021). Secara umum, bakteriosin kelas II terbagi atas empat subkelas, yaitu IIa (mirip pediosin), IIb (dua peptida), IIc (tanpa peptida pemimpin), dan IId (peptida tunggal non-pediocin) (Damoczi *et al.*, 2024).

- a. Subkelas IIa merupakan bakteriosin aktif mirip pediosin, efektif melawan *Listeria*, dan menunjukkan aktivitas anti-listerial. Contohnya adalah Pediosin PA1 (Fachrial dkk., 2022). Subkelas ini terdiri dari peptida kationik dengan berat molekul rendah, tersusun atas 37-48 residu asam

amino, memiliki N-terminal hidrofilik yang mengandung kotak pediosin, serta C-terminal yang bersifat hidrofilik atau amfifilik (Suryani, 2021).

- b. Subkelas IIb terdiri dari dua peptida terpisah yang bekerja secara sinergis untuk menghasilkan efek antimikroba, contohnya Laktasin F dan Laktokoksin G (Fachrial dkk., 2022). Peptida tersebut meliputi Lcn α (39 asam amino) tidak mengalami modifikasi dan Lcn- β (35 asam amino), keduanya bersifat kationik dengan area hidrofobik atau amfifilik (Suryani, 2021).
 - c. Subkelas IIc terdiri dari dua peptida tidak termodifikasi yang dihasilkan oleh bakteri Gram positif. Peptida kationik ini memiliki struktur melingkar yang meningkatkan aktivitas dan stabilitas antimikroba dibandingkan kelas lain. Mekanismenya melibatkan penyisipan struktur melingkar ke dalam membran sitoplasma bakteri patogen, sehingga membentuk pori dan menyebabkan kematian sel. Contoh bakteriosin subkelas ini adalah Enterocin AS-48 (Suryani, 2021).
 - d. Subkelas IId merupakan bakteriosin tunggal dengan struktur primer linier yang bervariasi dan memiliki mekanisme kerja berbeda dalam menghambat bakteri Gram positif (Suryani, 2021). Bakteriosin ini tidak termasuk pediosin, dan contohnya meliputi epidermisin NI01 dan laktokoksin A (Yang *et al.*, 2014).
3. Bakteriosin kelas III (peptida besar termolabil)

Bakteriosin kelas III merupakan kelompok protein berukuran besar (>30 kDA) dan bersifat tidak stabil terhadap panas. Contoh bakteriosin kelas III antara lain Helvetion I yang dihasilkan oleh *Lactobacillus helveticus* serta

Enterolisin dari *Enterococcus faecium* (Suryani, 2021). Kelas ini dibagi menjadi dua golongan berdasarkan mekanisme kerjanya. Golongan A memiliki aktivitas bakteriolitik melalui proses lisis sel, contohnya Enterolisin A. Sedangkan golongan B bersifat non-litik yang tidak menyebabkan lisis sel tetapi tetap menunjukkan aktivitas antimikroba, contohnya Caseisin 80 dan Helveticin J (Yang *et al.*, 2014).

2.6.2 Produksi bakteriosin

Senyawa bakteriosin merupakan peptida antimikroba yang diproduksi oleh berbagai jenis bakteri, terutama BAL (Fadila dkk., 2022). Senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui ikatan pada lipid II, komponen penting dalam pembentukan sintesis dinding sel bakteri (Husna dkk., 2024). Berdasarkan struktur dan sifatnya, bakteriosin diklasifikasikan menjadi beberapa kelas, yaitu kelas I (lantibiotik), kelas II (peptida kecil termostabil), dan kelas III (peptida besar termolabil) (Kumariya *et al.*, 2019).

Produksi bakteriosin terjadi secara alami melalui sintesis ribosom dalam sel bakteri (Husna dkk., 2024). Bakteriosin mencapai tingkat produksi maksimum pada fase eksponensial pertumbuhan, sedangkan sintesisnya menurun dan berakhir ketika kultur memasuki fase stasioner (Siswara dkk., 2019). Regulasi produksi bakteriosin dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, salah satunya keberadaan plasmid yang berasal dari DNA ekstrakromosal yang berperan dalam mengendalikan ekspresinya (Hafsan, 2014).

Produksi bakteriosin dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang memengaruhi berupa fase pertumbuhan bakteri, sedangkan faktor eksternal mencakup komposisi media, sumber karbon dan

nitrogen, suhu, serta pH lingkungan (Syahputri dkk., 2024; Wei *et al.*, 2025). Media pertumbuhan, seperti MRS atau *Tryptone-Glucose-Yeast Extract* (TGE), banyak digunakan karena mengandung nutrisi esensial bagi pertumbuhan BAL dan produksi bakteriosin (Hafsan, 2014; Wei *et al.*, 2025).

Tahapan produksi dan analisis bakteriosin umumnya meliputi: (a) pembuatan kultur bakteri asam laktat pada media cair MRSB; (b) produksi bakteriosin pada media *Tryptone-Glucose-Yeast Extract* (TGE) berfungsi menyediakan nutrisi esensial bagi bakteri dalam mensintesis senyawa antimikroba; (c) uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram atau sumuran untuk mengevaluasi efektivitasnya terhadap bakteri target; (d) karakterisasi stabilitas bakteriosin variasi pH, suhu, enzim, dan surfaktan, serta analisis sifat kimianya; (e) proses pemurnian bakteriosin menggunakan teknik elektroforesis untuk menentukan ukuran molekul serta komposisi asam aminonya (Hafsan, 2014).

2.6.3 Mekanisme kerja bakteriosin

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat umumnya menargetkan membran sitoplasma sel bakteri yang sensitif terhadap aktivitasnya (Hafsan, 2014). Purbowati dkk. (2024), menyebutkan bahwa membran sel sebagai target utama berbagai peptida antimikroba. Meskipun demikian, beberapa struktur seluler lain juga dapat menjadi sasaran aktivitas peptida tersebut.

Mekanisme kerja bakteriosin terhadap sel bakteri terjadi melalui berbagai cara, meliputi pembentukan pori pada membran, degradasi DNA, dan penghambatan sintesis dinding sel. Proses tersebut menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri maupun kematian bakteri target (Fatimah dkk., 2020). Selain itu, efek bakterisidal tidak hanya disebabkan oleh perubahan permeabilitas

membran akibat pembentukan pori, tetapi juga oleh penghambatan proses replikasi DNA (Yi *et al.*, 2016).

Interaksi bakteriosin dengan sel target dimulai dari penempelan pada membran melalui interaksi elektrostatis antara muatan positif bakteriosin dan muatan negatif membran sel. Penempelan ini memicu terbentuknya pori-pori yang mengakibatkan gangguan metabolisme sel serta menurunkan *Proton Motif Force* (PMF) (Fatimah dkk., 2020). PMF adalah gradien elektrokimia pada membran sitoplasma yang terdiri dari potensial membran dan perbedaan pH, berperan dalam pembentukan ATP serta proses akumulasi ion dan metabolit lainnya (Imam dkk., 2018).

Penurunan PMF berimplikasi pada terganggunya produksi ATP yang esensial bagi kelangsungan hidup sel bakteri. Defisiensi ATP mengakibatkan sel tidak dapat menyerap nutrisi dan menjaga keseimbangan kofaktor, seperti K^+ dan Mg^{2+} . Selain itu, kebocoran membran sitoplasma yang ditandai dengan keluarnya molekul intraseluler dan penurunan gradien pH semakin memperparah kerusakan sel (Fatimah dkk., 2020). Kondisi ini menghambat pertumbuhan dan dapat menyebabkan kematian sel yang rentan terhadap bakteriosin (Lestari *et al.*, 2019).

Bakteri Gram positif pada umumnya lebih sensitif terhadap aktivitas bakteriosin termasuk kelompok lantibiotik (Ríos Colombo *et al.*, 2023), sedangkan Gram negatif cenderung lebih resisten karena struktur dinding selnya yang kompleks, berlapis, dan tidak mengandung asam teikoat sebagai reseptor bakteriosin (Syarifah dkk., 2018). Ketahanan tersebut diperkuat oleh membran luar yang hidrofilik serta sistem selektif pada lipopolisakarida, sehingga menghambat kerja bakteriosin. Namun demikian, bakteri Gram negatif dapat menjadi lebih

sensitif apabila struktur lipopolisakarida pada permukaan sel mengalami kerusakan (Hafsan, 2014).

2.6.4 Kurva pertumbuhan bakteri

Bakteri mengalami empat fase pertumbuhan utama, yaitu lag (adaptasi), log (eksponensial), stasioner, dan kematian. Fase adaptasi (lag) adalah tahap awal pertumbuhan yang ditandai dengan adaptasi sel terhadap kondisi lingkungan baru (Aziza dkk., 2025). Fase ini pembelahan sel tidak terjadi sama sekali atau sangat lambat, meskipun aktivitas metabolisme tetap berjalan (Meiyasa & Nurjanah, 2021). Kemampuan adaptasi bakteri yang berlangsung pada fase ini dipengaruhi oleh komposisi media, tingkat pH, suhu, jumlah sel pada inokulum awal, serta kondisi fisiologis sel dari media sebelumnya (Aziza dkk., 2025). Durasi fase lag bervariasi dimulai beberapa menit hingga beberapa hari, sesuai dengan jenis media yang digunakan serta ukuran inokulum awal (Meiyasa & Nurjanah, 2021).

Fase eksponensial (log) adalah fase pertumbuhan cepat yang umumnya digunakan untuk mengamati ciri-ciri bakteri aktif. Fase log ditandai dengan peningkatan jumlah sel yang stabil, sehingga grafik logaritma jumlah sel terhadap waktu membentuk garis lurus. Produksi metabolit, seperti etanol, asam laktat, dan asam amino meningkat secara signifikan (Hakim, 2022). Menurut Risna dkk. (2022) fase ini merupakan periode yang dibutuhkan mikroba untuk membelah sel atau mengadakan sel yang disebut sebagai waktu generasi. Waktu generasi atau periode penggandaan sel pada fase ini bersifat konstan, dipengaruhi oleh jenis bakteri, ketersediaan nutrisi, suhu, pH, dan keberadaan oksigen. Ukuran sel bakteri cenderung stabil karena pembelahan berlangsung cepat tanpa adanya penyimpanan inklusi granular (Hakim, 2022).

Fase stasioner terjadi ketika laju pertumbuhan sebanding dengan laju kematian, sehingga populasi mikroba tetap konstan. Kondisi ini terjadi ketika laju pertumbuhan bakteri menurun karena keterbatasan nutrisi serta akumulasi produk metabolit. Fase kematian merupakan tahap terakhir pertumbuhan bakteri, ditandai dengan meningkatnya jumlah sel mati melebihi sel hidup (Risna dkk., 2022). Berkurangnya nutrisi dan kondisi lingkungan yang tidak mendukung, menyebabkan peningkatan angka kematian sel bakteri. Akibatnya, jumlah sel hidup terus berkurang dan populasi bakteri secara keseluruhan mengalami penurunan (Rastina dkk., 2024).

Produksi bakteriosin umumnya meningkat signifikan selama fase eksponensial dan mencapai tingkat tertinggi sebelum menurun pada fase stasioner, karena metabolisme berada pada tingkat optimal. Namun, jumlahnya menurun selama fase stasioner (Yang *et al.*, 2018). Waktu maksimum produksi bakteriosin bervariasi tergantung jenis bakteri, mulai dari fase log hingga akhir fase stasioner (Prissilia dkk., 2019).

Penelitian Angkuna dkk. (2019) menunjukkan bahwa *Lactobacillus casei* mengalami keempat fase tersebut selama 48 jam inkubasi. Fase lag berlangsung pada rentang jam ke-0 hingga jam ke-4, ketika bakteri beradaptasi dengan lingkungan dan media baru. Fase eksponensial berlangsung pada jam ke-8 hingga ke-32 dan ditandai oleh peningkatan jumlah sel yang signifikan. Fase stasioner berlangsung pada jam ke-34 hingga ke-38, ditandai dengan pertumbuhan stabil antara sel bakteri hidup dan mati. Fase kematian terjadi pada jam ke-40 hingga ke-48, ditandai dengan berkurangnya ketersediaan nutrisi dan akumulasi senyawa toksik dalam medium yang menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah sel

mati dan sel baru yang terbentuk, sehingga populasi bakteri mengalami penurunan (Novanti & Zulaika, 2019).

2.6.5 Aktivitas antibakteri bakteriosin

Bakteriosin adalah polipeptida antimikroba yang bersifat bakterisidal (Agusta dkk., 2023). Senyawa ini umumnya memiliki spektrum aktivitas lebih sempit dibandingkan antibiotik, karena hanya efektif terhadap bakteri yang memiliki kekerabatan dekat. Pengamatan aktivitas antibakteri bakteriosin terhadap bakteri patogen dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat. Pengujian aktivitas tersebut umumnya dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi, seperti difusi cakram (*disk diffusion*) dan difusi agar (*agar well diffusion*) (Fatimah dkk., 2020), serta metode pengenceran (dilusi) untuk menentukan efektivitas penghambatan (Khasanah & Nugraheni, 2021).

2.6.5.1 Metode difusi cakram

Metode difusi adalah salah satu teknik untuk menguji aktivitas antibakteri bakteriosin yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat diukur sebagai indikator tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri. Konsentrasi bakteri awal yang digunakan pada uji sensitivitas umumnya berada dalam rentang 10^6 – 10^8 CFU/mL (Salsabila & Faisal, 2024). Kriteria aktivitas penghambatan menurut Davis & Stout (1971) dalam Rahayuningsih dkk. (2023), zona hambat berukuran ≤ 5 mm termasuk dalam kategori lemah, dikatakan kategori sedang jika berukuran 5-10 mm, berukuran 10-20 mm kategori kuat, dan ≥ 20 mm termasuk dalam kategori zona hambat sangat kuat.

Metode difusi terbagi atas tiga jenis, antara lain difusi cakram, difusi sumuran, dan metode silinder (Nurhayati dkk., 2020). Pinsip kerja metode ini adalah agen antibakteri berdifusi dari kertas cakram, sumur, atau sumbat menuju media agar yang telah diinokulasi mikroba. Difusi tersebut mengakibatkan hambatan pertumbuhan mikroba di sekelilingnya yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening sebagai indikasi aktivitas antibakteri (Savana dkk., 2024).

Metode difusi cakram merupakan salah satu metode uji aktivitas antimikroba yang menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap zat antimikroba. Kertas cakram yang telah mengandung larutan uji, kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Media kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diamati untuk menentukan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba (Nurhayati dkk., 2020). Metode ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain prosedurnya yang cepat, biaya yang efisien karena tidak memerlukan peralatan atau bahan mahal, serta pelaksanaan yang sederhana dan mudah (Intan dkk., 2021).

2.6.5.2 Metode dilusi

Metode dilusi merupakan teknik pengujian efektivitas antibakteri dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Najiya dkk., 2022). Prinsip metode ini adalah terjadinya interaksi antara agen antibakteri yang telah dilarutkan dengan mikroba uji pada media cair atau padat. Hasil pengamatan diperoleh dengan menilai pertumbuhan mikroba. Konsentrasi terendah tanpa pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai

KHM, sedangkan konsentrasi yang membunuh mikroba ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008 dalam Tarigan & Muadifah, 2020).

Metode dilusi terbagi atas dua jenis, antara lain dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*agar dilution*) (Pratiwi, 2008 dalam Tarigan & Muadifah, 2020). Penentuan KHM dilakukan dengan metode dilusi cair, sementara KBM ditetapkan dengan metode dilusi padat (Pratiwi, 2008 dalam Sari dkk., 2022). Nilai KHM mengindikasikan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara *in vitro*, dengan hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan mg/L atau µg/mL (Magréault *et al.*, 2022).

Metode dilusi cair (*broth dilution*) merupakan pengujian dengan membuat serangkaian pengenceran agen antibakteri dilakukan dalam media cair yang telah diinokulasi mikroba uji. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba (ditandai dengan larutan tetap jernih) diidentifikasi sebagai KHM. Sedangkan konsentrasi yang mampu membunuh mikroba ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008 dalam Tarigan & Muadifah, 2020).

Metode dilusi padat (*agar dilution*) merupakan teknik pengujian yang diterapkan pada media agar yang telah mengandung inokulum bakteri serta agen antibakteri. Dilusi padat memiliki keunggulan, antara lain efisiensi penggunaan media yang lebih hemat, serta peningkatan ketepatan dalam menentukan titik akhir KHM (Wiegand *et al.*, 2008 dalam Nurul dkk., 2023). Penentuan KHM dan KBM penting dilakukan untuk memastikan penggunaan dosis yang tepat, mencegah pemberian konsentrasi berlebihan yang berpotensi menimbulkan overdosis, serta mengantisipasi timbulnya reaksi toksik akibat konsentrasi agen antibakteri yang terlalu tinggi (Tortora, 2010).

2.7 Bakteri sebagai Pembusuk

Bakteri dikelompokkan menjadi dua golongan didasarkan pada peranannya, meliputi bakteri patogen serta bakteri yang menguntungkan bagi kehidupan. Bakteri patogen berpotensi merusak makanan serta menimbulkan penyakit, sedangkan bakteri menguntungkan memiliki peran dalam proses fermentasi pangan (Asiah dkk., 2020). Beberapa contoh bakteri patogen adalah *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, dan *E. coli* yang banyak digunakan sebagai indikator dalam pengolahan pangan karena kemampuannya menghasilkan toksin berbahaya bagi manusia (Sembor dkk., 2024).

2.7.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif berbentuk *coccus* yang tersusun tidak beraturan menyerupai gerombolan buah anggur. *S. aureus* tergolong fakultatif anaerob, tidak bergerak, dan tidak membentuk spora (Hasyati & Meilani, 2022). Menurut Hasbi dkk. (2024), *S. aureus* mampu melakukan metabolisme karbohidrat baik dengan keberadaan oksigen (aerobik) maupun tanpa oksigen (fermentasi). Pertumbuhan *S. aureus* optimum pada 37°C, sedangkan pembentukan pigmen tertinggi terjadi pada kisaran suhu ruang 20-25°C. *Staphylococcus aureus* banyak ditemukan di berbagai lingkungan, termasuk tanah, air, membran mukosa, serta hampir seluruh bagian tubuh manusia, terutama di area kulit.

Sebagai bakteri patogen oportunistik, *S. aureus* secara alami hidup pada bagian epidermis kulit dan selaput lendir sekitar 30-50% pada orang sehat. Bakteri ini mampu menggumpalkan plasma darah, melisiskan sel darah merah (hemolisis), serta menghasilkan enzim ekstraseluler dan toksin (Benjamin dkk., 2024).

Hemolisin berperan sebagai faktor patogenitas utama dengan merusak eritrosit, menyebabkan peningkatan permeabilitas sel, sehingga sel lebih mudah mengalami infeksi (Ainutajriani dkk., 2024).

Staphylococcus aureus termasuk patogen penting penyebab infeksi nosokomial, khususnya pada kasus luka operasi dan penggunaan peralatan medis di rumah sakit (Salnus & Islawati, 2024). Bakteri ini mampu mengakibatkan beragam jenis infeksi pada manusia, di antaranya infeksi kulit, infeksi saluran kemih, pneumonia, mastitis, flebitis, serta meningitis. Selain menyebabkan infeksi akut, *S. aureus* juga dapat memicu infeksi kronis, antara lain osteomielitis dan endokarditis (Faroliu dkk., 2025).

Bakteri ini selain berperan sebagai agen infeksi juga menjadi penyebab keracunan makanan akibat produksi enterotoksin pada pangan yang terkontaminasi (Salnus & Islawati, 2024). Enterotoksin bersifat tahan terhadap suhu tinggi dan kondisi pH rendah. Sehingga meskipun bakteri dalam keadaan mati akibat pemanasan, pendinginan, atau pembekuan, toksin tetap bertahan dan berpotensi menimbulkan keracunan parah (Velasco *et al.*, 2018).

Enterotoksin dapat memicu gejala keracunan pangan, seperti mual, muntah, diare, dan nyeri perut. Lebih lanjut, *S. aureus* juga dapat menyebabkan sindrom renjat toksik (*toxic shock syndrome*) melalui sekresi superantigen ke dalam sirkulasi darah (Salnus & Islawati, 2024). Superantigen merupakan protein toksik yang dapat mengaktivasi sistem imun secara berlebihan sehingga memicu respons inflamasi yang parah dan berbahaya (Hamdy & Leonardi, 2022).

2.7.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa termasuk bakteri berbentuk *basil* dengan sifat heterotrofik, mampu bergerak, serta tergolong Gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob fakultatif, mampu tumbuh melalui respirasi aerobik maupun anaerobik (Diggle & Whiteley, 2020). Menurut Abdulla & Abd Abo-risha (2024), *Pseudomonas aeruginosa* memiliki suhu pertumbuhan optimum pada 37°C, serta dapat bertahan pada rentang suhu 4°C hingga 42°C. Kemampuan untuk tumbuh pada suhu 42°C menjadi ciri pembeda, karena bakteri ini membentuk fluoresensi, tergolong oksidase positif, tidak memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat, melainkan memetabolisme glukosa melalui jalur oksidatif serta menghasilkan energi melalui respirasi aerobik (Fauziah, 2024).

Pseudomonas aeruginosa mampu menginfeksi individu dengan sistem imun normal (*immunocompetent*) maupun dengan sistem imun yang lemah (*immunocompromised*). Infeksi yang ditimbulkan bersifat oportunistik, yaitu terjadi ketika bakteri memanfaatkan kondisi penurunan daya tahan tubuh atau adanya luka. *P. aeruginosa* juga berperan penting dalam infeksi nosokomial di lingkungan rumah sakit (Scania & Ningsih, 2023).

Berbagai organ yang dapat terinfeksi oleh patogen oportunistik ini meliputi mata, kulit, telinga (otitis eksterna), sistem pernapasan, dan saluran kemih (Dilak dkk., 2022). *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan enterotoksin yang dapat memicu gangguan pencernaan, seperti diare, mual, muntah, dan kram perut (Pratama dkk., 2024). Infeksi yang dipicu oleh bakteri *P. aeruginosa* pada umumnya diobati melalui terapi antibiotik, namun efektivitas pengobatannya pada infeksi nosokomial seringkali menurun. Selain memiliki resisten intrinsik terhadap

antibiotik, bakteri ini juga mampu memperoleh resistensi tambahan yang menyebabkan penanganannya lebih sulit (Prasetya dkk., 2024).

Selain sebagai agen infeksi, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai jenis makanan, seperti daging ayam, telur, produk susu, makanan laut, dan daging beku yang dicairkan kembali (Sari dkk., 2024; Farghaly *et al.*, 2022). Kerusakan terjadi akibat bakteri menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi lemak dan protein (Sari dkk., 2024), sehingga makanan menjadi berlendir, berubah warna, lengket, berbau tidak sedap, dan mengalami pembusukan. Sistem air juga dapat menjadi sumber kontaminasi bagi industri pangan dan minuman (Farghaly *et al.*, 2022).

2.8 Media Selektif MRSA dan MRSB

Media *De Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) adalah media selektif yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat, sehingga banyak digunakan sebagai tempat kultivasi BAL (Sari dkk., 2021). Media *De Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) serta *De Man, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) diformulasikan sebagai media selektif untuk pertumbuhan BAL, dengan perbedaan fungsi sesuai tujuan penggunaannya. Media MRSA digunakan untuk pertumbuhan dan isolasi BAL, sedangkan MRSB adalah media cair yang mendukung produksi serta pelepasan bakteriosin oleh BAL, serta berfungsi sebagai media penyimpanan kultur (kultur stok) (Ningsih dkk., 2018 dalam Windy & Dewi, 2023).

2.9 Peranan Mikroorganisme pada Limbah Cair Tahu dalam Perspektif Islam

Hasil samping berupa limbah cair tahu dari proses produksi tidak hanya dianggap sebagai limbah industri, tetapi juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber daya yang bernilai. Limbah ini umumnya berupa air yang mengandung protein,

lemak, serta senyawa organik lainnya. Pembuangan limbah tanpa pengolahan ke lingkungan, berpotensi menyebabkan pencemaran air dan tanah, serta membahayakan kesehatan manusia dan makhluk hidup lainnya (Setyawan dkk., 2025). Hal ini selaras dengan ajaran Islam yang menegaskan tanggung jawab manusia dalam menjaga kelestarian lingkungan dan mencegah terjadinya kerusakan di bumi. Firman Allah SWT. dalam QS. Ar-Rum [30]: 41 menjelaskan akibat dari perilaku manusia yang tidak bertanggung jawab terhadap lingkungan,

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا
لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya: “Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia. (Melalui hal itu) Allah membuat mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka agar mereka kembali (ke jalan yang benar).” (QS: Ar-Rum [30]: 41) (Kemenag, 2019).

Quraish Shihab dalam Tafsir Al-Mishbah menjelaskan bahwa istilah *zhahara* dan *al-fasād* menunjukkan adanya kerusakan nyata serta ketidakseimbangan lingkungan yang muncul akibat tindakan manusia, termasuk berkurangnya manfaat yang semestinya dapat diperoleh dari alam (Shihab, 2002). Dalam perspektif Islam, pengelolaan limbah cair tahu tidak hanya berkaitan dengan aspek teknis dan ekologis, tetapi juga didasarkan pada kesadaran bahwa alam merupakan amanah dari Allah SWT. yang harus dikelola secara bijaksana. Mikroorganisme yang terdapat dalam limbah cair tahu memiliki peran dalam menjaga keseimbangan lingkungan dan menghasilkan senyawa yang bermanfaat (Khuluq & Asmuni, 2024). Dengan demikian, pemanfaatan limbah cair tahu sebagai sumber BAL merupakan bentuk pengelolaan sumber daya yang sejalan dengan ajaran Islam untuk mewujudkan kemaslahatan dan mencegah kerusakan lingkungan.

Hal tersebut selaras dengan fikih lingkungan (*fiqh al-bi'ah*) yang menekankan pentingnya pelestarian lingkungan dan pencegahan kerusakan. Salah satu kaidah fikih menyatakan bahwa “*dar’ al-mafāsīd muqaddam ‘alā jalb al-mashālih*” (mencegah kerusakan lebih diutamakan daripada memperoleh kemaslahatan) (Lisnawati dkk., 2025). Berdasarkan prinsip tersebut, *whey* tahu tidak seharusnya dibuang langsung ke lingkungan karena berpotensi menimbulkan pencemaran. Sebaliknya, limbah tersebut dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan BAL yang mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat serta menghasilkan senyawa antibakteri berupa bakteriosin (Felix dkk., 2024; Fadila dkk., 2022).

Pemanfaatan limbah cair tahu tidak hanya terbatas pada upaya pencegahan pencemaran lingkungan, namun juga memberikan peluang dalam menghasilkan produk yang bernilai guna. Salah satu pemanfaatannya adalah sebagai sumber bakteri asam laktat penghasil bakteriosin yang dapat diaplikasikan dalam bidang pangan. Dalam perspektif Islam, pemanfaatan tersebut berkaitan dengan prinsip *halalan thayyiban*, yaitu pangan yang halal, baik, bergizi, aman dan tidak membahayakan kesehatan (Mawarni dkk., 2025).

Bakteriosin merupakan senyawa peptida antimikroba yang diproduksi secara ribosomal oleh BAL (Putra dkk., 2024). Senyawa ini relatif aman karena mudah didegradasi oleh enzim proteolitik dalam tubuh serta tidak mengganggu keseimbangan mikroflora usus (Nurraifah dkk., 2021). Beberapa jenis bakteriosin, seperti nisin, pediosin, dan enterosin, diketahui efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif penyebab penyakit (Suryani, 2021). Potensi tersebut menjadikan bakteriosin sebagai alternatif alami pengganti

antibiotik sintetik yang dapat menekan risiko resistensi bakteri, serta memperpanjang umur simpan produk pangan (Meysari dkk., 2025).

Dalam perspektif Islam, penggunaan bakteriosin sebagai pengawet alami dapat dinilai sesuai dengan prinsip *halalan thayyiban* karena berasal dari BAL yang aman dikonsumsi, memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen, dan tidak menimbulkan dampak yang membahayakan kesehatan manusia. Selain itu, penggunaannya juga dapat mengurangi ketergantungan terhadap bahan pengawet kimia, serta meningkatkan nilai fungsional produk pangan (Setiawan, 2020). Pernyataan ini sesuai dengan firman Allah SWT. dalam QS. Al-Ma'idah [5]: 88,

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ ﴿٨٨﴾

Artinya: “Makanlah apa yang telah Allah anugerahkan kepadamu sebagai rezeki yang halal lagi baik, dan bertakwalah kepada Allah yang hanya kepada-Nya kamu beriman.” (QS. Al-Ma'idah [5]: 88) (Kemenag, 2019).

Quraish Shihab dalam Tafsir Al-Mishbah, menjelaskan bahwa konsep *thayyib* tidak hanya berarti halal untuk dikonsumsi, tetapi juga mencakup aspek keamanan, nilai gizi, serta manfaat bagi kesehatan (Shihab, 2002). Penafsiran tersebut relevan dengan pemanfaatan bakteriosin sebagai pengawet alami yang selain halal juga sesuai dengan prinsip *thayyib*. Bakteriosin terbukti memiliki manfaat bagi kesehatan, aman dikonsumsi, serta berperan dalam menjaga kualitas pangan (Fadila dkk., 2022).

Dalam perspektif fikih pangan (*fiqh al-ath'imah*), suatu produk pangan tidak hanya diharuskan bebas dari unsur yang diharamkan, tetapi juga harus memberikan manfaat dan tidak menimbulkan mudarat bagi konsumen (Sahib & Ifna, 2024). Dengan demikian, penggunaan bakteriosin sebagai pengawet alami mencerminkan penerapan prinsip *halalan thayyiban*, karena mampu meningkatkan

keamanan dan kualitas pangan tanpa membahayakan kesehatan. Hal ini juga menunjukkan upaya manusia dalam mengelola sumber daya secara bijaksana serta menyediakan pangan yang halal, bergizi, bermanfaat, dan aman untuk dikonsumsi.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menerapkan metode eksperimental berbasis pendekatan kuantitatif yang disusun dalam rancangan faktorial dua faktor pada Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama, yakni variasi konsentrasi bakteriosin (0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%), sedangkan faktor kedua berupa jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Setiap perlakuan dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Data penelitian diperoleh melalui uji difusi cakram untuk menentukan zona hambat, serta menggunakan metode dilusi dalam penentuan KHM dan KBM. Hasil pengamatan selanjutnya dianalisis secara deskriptif kuantitatif dan diuji secara statistik untuk menentukan adanya perbedaan signifikan antarperlakuan.

3.2 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi bakteriosin sebagai perlakuan antibakteri.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi aktivitas antibakteri bakteriosin yang diukur berdasarkan diameter zona hambat (mm), nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) melalui metode dilusi.

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian di meliputi kondisi inkubasi (suhu, waktu, dan media), konsentrasi bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan

Pseudomonas aeruginosa), metode pengujian antibakteri (difusi cakram dan dilusi), pH media uji, serta penggunaan kontrol negatif (pelarut MRSB) dan kontrol positif (antibiotik kloramfenikol untuk *S. aureus* dan ciprofloxacin untuk *P. aeruginosa*).

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2025 – Januari 2026 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, serta Laboratorium Mikrobiologi Terpadu, Universitas Islam Malang.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas autoklaf, *beaker glass*, *blue tip*, *yellow tip*, bunsen, cawan petri, Erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jarum ose, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, *magnetic stirrer*, mikroskop, mikropipet, *object glass*, *cover glass*, pH meter, pinset, rak tabung reaksi, sentrifugasi, tabung Durham, tabung Eppendorf, tabung reaksi, timbangan analitik, dan spektrofotometer.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, limbah cair tahu, media *De Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), media *De Mann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), media *Mueller-Hinton Agar* (MHA), media *Mueller-Hinton Broth* (MHB), *pepton water*, alkohol 70%, alkohol 96%, akuades steril, aluminium foil, CaCO_3 (kalsium karbonat) 1%, H_2O_2 (hidrogen peroksida) 3%, iodine, kapas, kertas cakram, *syringe filter* 0,22 μm , larutan NaCl (natrium klorida) 0,9%, minyak

imersi, NaOH 1N (natrium hidroksida), pewarna Gram kristal violet, pewarna endospora *Malachite green*, safranin, *yeast extract* 2%, kertas Whatman No. 1, isolat *Staphylococcus aureus*, dan isolat *Pseudomonas aeruginosa*.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi sampel

Sampel limbah cair pembuatan tahu diambil dari produsen di Pabrik Tahu UD. Jaya Sari, Karang Ploso, Kabupaten Malang. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi secara aseptis untuk dilakukan isolasi bakteri asam laktat dan uji aktivitas antibakteri.

3.5.2 Sterilisasi alat

Proses sterilisasi diawali dengan pencucian seluruh peralatan gelas menggunakan sabun hingga bersih, kemudian dikeringanginkan. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas putih, sedangkan alat lainnya dibungkus dengan aluminium foil. Seluruh alat, selanjutnya dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dan diikat menggunakan karet gelang. Sterilisasi dilakukan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit dan tekanan 1 atm. Beberapa alat yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, sterilisasi dilakukan secara kimiawi dengan menyemprotkan alkohol 70% pada permukaan peralatan sebelum digunakan (Putri & Yustiantara, 2023).

3.5.3 Pembuatan media

3.5.3.1 Media MRSA dan MRSB

Media *De Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dan *De Man, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) masing-masing dibuat dengan melarutkan 13,64 gram MRSA dan 10,44 gram MRSB dalam 200 ml akuades, kemudian dimasukkan ke

dalam Erlenmeyer. Larutan dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, media ditutup menggunakan aluminium foil untuk disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dengan tekanan 1 atm (Amir dkk., 2024).

3.5.3.2 Media MHA dan MHB

Media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dan *Mueller-Hinton Broth* masing-masing dibuat dengan melarutkan 7,6 gram MHA dan 4,2 gram MHB dalam 200 ml akuades menggunakan Erlenmeyer. Selanjutnya, larutan dipanaskan di atas *hot plate* hingga mencapai titik didih serta diaduk secara homogen menggunakan *magnetic stirrer*. Media kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Mulqie dkk., 2022).

3.5.4 Isolasi bakteri asam laktat

Sebelum proses isolasi BAL, dilakukan tahap *enrichment* terlebih dahulu dengan menginkubasi sampel limbah cair tahu dalam media *MRS Broth* selama 24 jam pada suhu 37° C untuk mengaktifkan kembali sel bakteri, serta meningkatkan populasi BAL (Harahap dkk., 2024). Selanjutnya, sampel hasil *enrichment* diambil secara aseptis sebanyak 1 ml, kemudian dicampurkan dengan 9 ml pepton *water* steril (0,1%, b/v) dan dihomogenkan. Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga pengenceran 10^{-4} . Sebanyak 1 ml suspensi dari tiga tingkat pengenceran terakhir diinokulasikan ke dalam ± 15 ml MRSA yang telah ditambahkan dengan CaCO_3 1% menggunakan metode sebar (*spread plate*). Kultur kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang membentuk zona bening kemudian dipilih dan dimurnikan untuk tahap karakterisasi lebih lanjut (Manalu & Pardosi., 2024).

3.5.5 Pemurnian dan penyimpanan isolat bakteri asam laktat

Koloni bakteri asam laktat yang terpilih kemudian dimurnikan menggunakan metode goresan (*streak plate*) pada media MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Proses pemurnian dilakukan secara berulang hingga diperoleh koloni tunggal yang menunjukkan kemurnian isolat. Koloni tunggal yang telah murni selanjutnya disubkultur ke dalam tabung reaksi berisi media MRSA miring sebagai stok kultur dan digunakan sebagai isolat uji (Manalu & Pardosi, 2024).

3.5.6 Karakterisasi bakteri asam laktat

3.5.6.1 Pengamatan makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi koloni BAL yang tumbuh pada media MRSA. Koloni diamati berdasarkan bentuk, warna, tepian, elevasi, serta ukuran koloni menggunakan cawan petri sebagai media pertumbuhan. Ciri-ciri morfologi digunakan sebagai indikator awal untuk mengenali karakteristik isolat BAL sebelum dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan uji biokimia (Abidin *et al.*, 2024).

3.5.6.2 Pengamatan mikroskopis

Pengamatan mikroskopis BAL dilakukan untuk mengidentifikasi morfologi sel melalui hasil pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora (Santosa & Retnaningrum, 2020).

3.5.6.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengklasifikasikan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Metode ini menggunakan empat jenis zat warna, yaitu *crystal violet* sebagai pewarna utama, iodin sebagai mordan yang berfungsi memperkuat

ikatan pewarna pada dinding sel bakteri, alkohol 96% sebagai pelarut (dekolorisator), dan safranin sebagai pewarna penutup. Preparat dibuat dengan meneteskan larutan NaCl fisiologis pada *object glass* sebanyak dua tetes, kemudian isolat hasil pemurnian diambil sebanyak satu ose dan digoreskan secara aseptis. Selanjutnya, preparat difiksasi dengan pemanasan di atas nyala api bunsen selama ± 5 detik (Aýun dkk., 2023).

Tahap pewarnaan diawali dengan meneteskan *crystal violet* sebanyak dua tetes dan didiamkan selama 60 detik, kemudian dibilas dengan akuades mengalir. Setelah itu, ditambahkan iodine sebanyak dua tetes dan didiamkan selama 60 detik, lalu kembali dibilas dan dikeringkan. Preparat kemudian ditetesi alkohol 96% sebagai dekolorisator selama ± 30 detik untuk melunturkan pewarnaan sebelumnya, kemudian dibilas kembali dengan akuades (Aýun dkk., 2023).

Tahap terakhir, preparat ditetesi safranin sebanyak dua tetes dan didiamkan selama 60 detik, kemudian dibilas dengan akuades dan dikeringkanginkan (Aýun dkk., 2023). Sebelum dilakukan pengamatan di bawah mikroskop, preparat ditetesi minyak imersi (Husain dkk., 2022). Melalui pewarnaan Gram, bahwa bakteri Gram positif terlihat tetap berwarna ungu setelah perlakuan alkohol dan safranin, sedangkan bakteri Gram negatif mengalami perubahan warna menjadi merah (Abdullah *et al.*, 2021).

3.5.6.2.2 Pewarnaan endospora

Larutan NaCl fisiologis ditetaskan sebanyak dua tetes pada *object glass* sebagai langkah awal pewarnaan endospora. Selanjutnya, diambil satu ose isolat bakteri dilakukan secara aseptis menggunakan jarum ose, dan disebarkan merata pada *object glass*. Preparat kemudian difiksasi di atas nyala api bunsen selama ± 5

detik. Setelah itu, preparat ditetesi *Malachite green* hingga seluruh permukaan tertutup, kemudian dipanaskan perlahan di atas nyala api bunsen selama ± 5 menit hingga muncul uap. Preparat selanjutnya dibilas dengan akuades mengalir.

Tahap berikutnya, safranin ditambahkan pada preparat dan didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas menggunakan akuades mengalir dan dikeringkan. Preparat yang telah kering kemudian diberi minyak emersi sebelum pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran $1000\times$ (Suphandi dkk., 2023). Melalui kombinasi pewarnaan *Malachite green* dan safranin, endospora positif tampak berwarna hijau, sementara sel vegetatif berwarna merah (Zahidah & Shovitri, 2013 dalam Kembuan dkk., 2024). Menurut Harahap dkk. (2024), BAL diketahui tidak membentuk spora. Sehingga, setelah pewarnaan dengan safranin yang teramati hanya sel vegetatif berwarna merah.

3.5.6.3 Uji biokimia

Uji biokimia BAL dilakukan melalui beberapa pengujian, meliputi uji katalase, tipe fermentasi, serta ketahanan terhadap variasi pH yang diuraikan sebagai berikut:

3.5.6.3.1 Uji katalase

Isolat bakteri diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan diletakkan pada *object glass*, kemudian ditetesi larutan H_2O_2 3% untuk dilakukan uji katalase. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung gas oksigen akibat penguraian H_2O_2 oleh enzim katalase. Sebaliknya, bakteri asam laktat menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas (Khairunnisa dkk., 2018 dalam Kembuan dkk., 2024).

3.5.6.3.2 Uji tipe fermentasi

Uji fermentasi glukosa dilakukan melalui pemindahan satu ose isolat bakteri ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml media MRSB dan dilengkapi tabung Durham. Setelah itu, proses inkubasi kultur dilakukan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Gas yang terbentuk pada tabung Durham mengindikasikan fermentasi homofermentatif yang menghasilkan CO₂ serta menyebabkan perubahan warna media menjadi kuning, sedangkan tidak terbentuknya gas menunjukkan fermentasi homofermentatif yang hanya menghasilkan asam laktat (Kembuan dkk., 2024).

3.5.6.3.3 Uji ketahanan pH

Uji ketahanan pH dilakukan melalui penambahan 0,1 ml suspensi kultur BAL ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media MRSB yang telah disesuaikan pH-nya, yaitu pH 2 dan 5 untuk kondisi asam (asidofil), pH 7 untuk kondisi netral (neutrofil), serta pH 9 untuk kondisi basa (alkalofil). Media hasil inokulasi selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, untuk menyesuaikan serta menstabilkan senyawa terhadap kondisi pH yang diberikan. Pertumbuhan bakteri dalam setiap tabung selanjutnya diamati (Medaando dkk., 2024). Pertumbuhan bakteri dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya lapisan padat di dasar tabung dan keruhnya larutan media setelah masa inkubasi dibandingkan dengan kondisi awal (Aýun dkk., 2023).

3.5.7 Produksi bakteriosin dan pembuatan inokulum

3.5.7.1 Pembuatan inokulum (kultur aktif)

Pembuatan inokulum diawali dengan mengambil masing-masing dua ose isolat hasil peremajaan pada media MRS Agar miring. Isolat kemudian diinokulasikan ke dalam 25 ml media MRSB steril. Kultur diinkubasi dalam *shaker*

incubator pada suhu 37°C selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm hingga diperoleh inokulum aktif yang siap digunakan untuk produksi bakteriosin (Kurnia dkk., 2020).

3.5.7.2 Produksi bakteriosin

Proses produksi bakteriosin dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 5 ml inokulum ke dalam 45 ml medium MRSB yang diperkaya *yeast extract* 2% (b/v). Penambahan *yeast extract* bertujuan menyediakan sumber nitrogen dan faktor pertumbuhan yang mendukung pemanfaatan karbohidrat oleh bakteri asam laktat selama fermentasi, sehingga pertumbuhan sel dan produksi bakteriosin dapat berlangsung secara optimal (Wardani & Agustini, 2017). Selanjutnya, kultur diinkubasi menggunakan *shaker incubator* pada suhu 37°C selama 24 jam, dengan kecepatan 100 rpm hingga mencapai kondisi pH media sekitar 4 yang menunjukkan aktivitas fermentasi oleh bakteri (Razak dkk., 2009 dalam Harianie, 2013).

Kultur hasil fermentasi kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dari endapan sel. Supernatan yang mengandung bakteriosin selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk menghilangkan sisa partikel padat. Filtrat bebas sel yang diperoleh kemudian dinetralkan hingga pH 7,0 menggunakan larutan NaOH 1N (Hasan & Wikandari, 2018). Setelah itu, filtrat disterilkan menggunakan *syringe filter* berukuran pori 0,22 µm untuk memastikan tidak adanya sel bakteri yang tersisa (Hamida, 2021). Filtrat steril yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar bakteriosin yang selanjutnya digunakan untuk pengujian lebih lanjut (Razak dkk., 2009 dalam Harianie 2013).

3.5.8 Uji aktivitas antibakteri bakteriosin

3.5.8.1 Pembuatan variasi konsentrasi

Ekstrak bakteriosin diencerkan menggunakan larutan NaCl 0,9% untuk memperoleh variasi konsentrasi (Raningsih dkk., 2021). Proses pengenceran dilakukan berdasarkan rumus:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan volume akhir sebesar 10 ml. Perhitungan volume ekstrak bakteriosin dan NaCl 0,9% pada masing-masing konsentrasi disajikan pada tabel berikut:

Tabel 3.1. Perhitungan volume ekstrak bakteriosin dan NaCl 0,9%

Konsentrasi (%)	Volume Ekstrak (ml)	Volume NaCl 0,9% (ml)	Volume Total (ml)
0 (Kontrol)	0,00	10,00	10,00
25	2,50	7,50	10,00
50	5,00	5,00	10,00
75	7,50	2,50	10,00
100	10,00	0,00	10,00

Keterangan: Setiap variasi konsentrasi dibuat dengan volume total 10 mL menggunakan kombinasi antara ekstrak kasar bakteriosin dan larutan fisiologis NaCl 0,9% sebagai pengencer. Campuran dihomogenkan sebelum digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

3.5.8.2 Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dibuat dengan mengambil satu ose bakteri hasil inokulasi secara aseptis. Bakteri kemudian disuspensikan ke dalam 10 ml larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan menggunakan vortex hingga mencapai tingkat kekeruhan sesuai standar

McFarland. Penyesuaian kepadatan suspensi dilakukan secara visual dan selanjutnya dikonfirmasi melalui pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (OD600) hingga didapatkan OD 0,080 – 0,100 (Rizki dkk., 2022 dalam Fionaliasti dkk., 2024).

Komposisi larutan standar McFarland tersusun atas 9,95 ml larutan asam sulfat (H_2SO_4) 1% dan 0,05 ml larutan barium klorida (BaCl_2) 1,175%. Langkah pembuatan dilakukan melalui pencampuran kedua larutan dalam tabung reaksi yang kemudian dihomogenkan. Kesetaraan kekeruhan antara suspensi bakteri uji dan larutan standar menunjukkan bahwa konsentrasi suspensi bakteri sebesar 10^8 CFU/mL (Ramadani dkk., 2024).

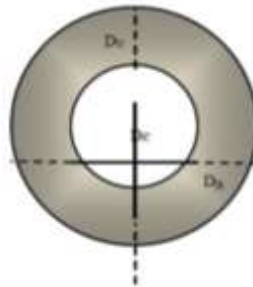
3.5.8.3 Uji difusi cakram

Aktivitas antibakteri bakteriosin diuji menggunakan metode difusi cakram. Ekstrak kasar bakteriosin dibuat dalam variasi konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% melalui pengenceran menggunakan larutan penyangga steril. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 20 μl ditetaskan pada kertas cakram berdiameter 6 mm, kemudian didiamkan selama 30 menit. Kertas cakram selanjutnya diletakkan pada media MHA yang telah diinokulasikan dengan suspensi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Safitri dkk., 2017).

Kontrol positif yang digunakan berupa antibiotik kloramfenikol untuk *Staphylococcus aureus* dan ciprofloxacin untuk *Pseudomonas aeruginosa*. Sementara itu, NaCl 0,9% digunakan sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa pembentukan zona hambat berasal dari aktivitas bakteriosin (Pratiwi, 2008). Proses inkubasi cawan petri dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diamati melalui terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram

sebagai indikasi penghambatan pertumbuhan bakteri uji oleh bakteriosin. Diameter zona hambat kemudian diukur menggunakan jangka sorong (Yevani dkk., 2023).

Metode pengukuran zona hambat dilakukan sebagai berikut:



Gambar 3.1. Pengukuran diameter zona hambat, (Magvirah dkk., 2019).

Diameter zona hambat ditentukan berdasarkan perhitungan: $\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$

Keterangan:

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Dc = Diameter cakram (Magvirah dkk., 2019).

3.5.8.4 Uji konsentrasi hambat minimum dan bunuh minimum

Pengujian KHM dan KBM dilakukan dengan mengacu pada metode Indrawan dkk. (2024) dengan beberapa penyesuaian. Uji KHM dilakukan dengan disiapkan larutan media MHB sebanyak 100 ml, kemudian didistribusikan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 ml. Selanjutnya, ditambahkan ekstrak bakteriosin pada berbagai konsentrasi. Tahap berikutnya dilakukan dengan menambahkan 1 ml suspensi bakteri uji ke setiap tabung reaksi, lalu diinkubasi pada

suhu 37°C selama 24 jam. Nilai KHM ditentukan berdasarkan pengamatan tingkat kekeruhan pada tabung reaksi (Amelia dkk., 2023).

Larutan pada konsentrasi yang menunjukkan KHM kemudian diinokulasikan pada media MHA menggunakan metode gores, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pertumbuhan koloni bakteri selanjutnya diamati dan dihitung menggunakan *colony counter*. Konsentrasi bakteriosin terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri ditetapkan sebagai nilai KBM (Aisyiyah dkk., 2024).

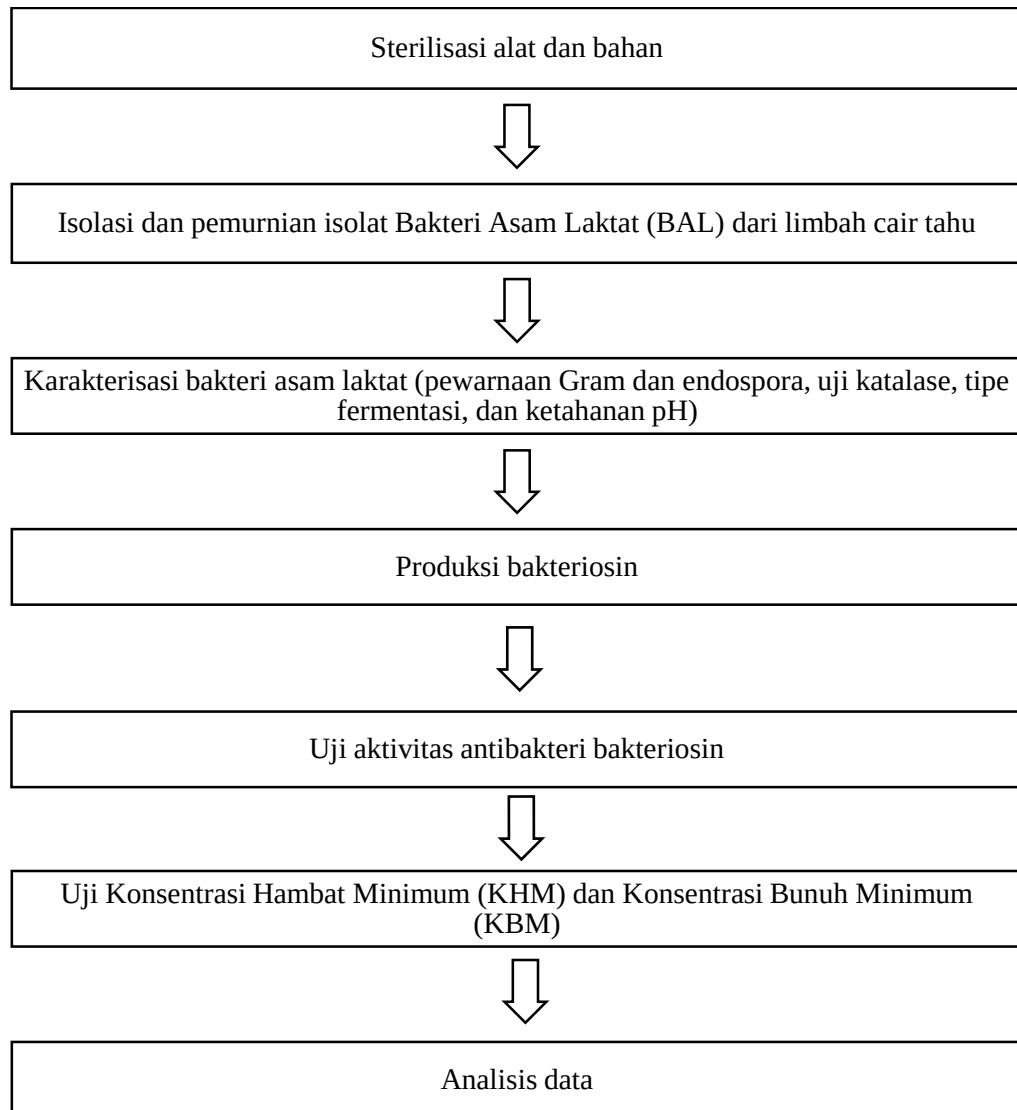
3.6 Teknik Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan metode deskriptif dan statistik. Data kualitatif diperoleh melalui pengamatan morfologi, karakterisasi mikroskopis, serta uji biokimia terhadap isolat bakteri asam laktat (BAL). Sementara itu, data kuantitatif meliputi diameter zona hambat pada uji difusi cakram, serta nilai KHM dan KBM pada uji dilusi. Data kuantitatif dianalisis secara deskriptif kuantitatif dan statistik menggunakan IBM SPSS *Statistics*.

Data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan homogenitas menggunakan uji Levene. Apabila data berdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), analisis dilanjutkan menggunakan uji One-Way ANOVA. Sebaliknya, jika data tidak memenuhi asumsi tersebut, digunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilakukan uji lanjut menggunakan Tukey's HSD pada analisis ANOVA atau uji *Pairwise Comparisons* pada analisis Kruskal-Wallis. Seluruh data kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, serta diinterpretasikan secara ilmiah berdasarkan teori dan penelitian yang relevan.

3.7 Alur Penelitian

Diagram alur penelitian ini adalah sebagai berikut:



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik BAL dari Limbah Cair Tahu

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari limbah cair tahu menghasilkan tiga isolat bakteri yang mampu tumbuh pada medium MRSA dengan penambahan CaCO_3 . Reaksi antara asam laktat yang dihasilkan oleh BAL dan CaCO_3 (kalsium karbonat) membentuk kalsium laktat yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Menurut Putri *et al.* (2020), penambahan CaCO_3 berfungsi sebagai indikator untuk membedakan BAL dan bakteri yang tidak menghasilkan asam, ditandai dengan adanya zona bening pada medium. Pertumbuhan zona bening pada MRS Agar menunjukkan aktivitas metabolik BAL dalam menghasilkan asam organik yang bereaksi dengan CaCO_3 bersifat basa, sehingga terbentuk daerah netral di sekitar koloni (Laila dkk., 2024). Isolasi bakteri dari limbah cair tahu yang menghasilkan zona bening ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Isolat bakteri dari limbah cair tahu yang terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri, (dokumentasi pribadi).

Tiga isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi limbah cair tahu selanjutnya diamati secara makroskopis berdasarkan karakteristik morfologinya. Menurut Sari & Mustakim (2025), bakteri dapat identifikasi berdasarkan

karakteristik morfologi koloni yang tumbuh, antara lain bentuk, tepian, warna, elevasi, dan ukuran. Variasi bentuk koloni yang muncul menunjukkan adanya perbedaan karakter morfologi antar jenis bakteri yang tumbuh. Pengamatan secara makroskopis terhadap isolat bakteri asam laktat disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri dari limbah cair tahu

Kode Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Tepian	Warna	Elevasi	Diameter (mm)
LT 1	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	1,69
LT 2	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	1,52
LT 4	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	1,86

Keterangan: LT = Limbah Tahu

Data hasil pengamatan menunjukkan bahwa ketiga isolat yang diperoleh memiliki morfologi koloni yang serupa pada medium MRS Agar. Koloni dari masing-masing isolat berbentuk bulat, tepi rata, berwarna putih susu, serta memiliki elevasi cembung. Kesamaan karakteristik morfologi tersebut mengindikasikan bahwa ketiga isolat berasal dari kelompok bakteri yang sama atau berkerabat dekat. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian Laila dkk. (2024) yang menunjukkan bahwa isolat bakteri pada medium MRS Agar umumnya membentuk koloni berwarna putih susu, karena adanya pigmen alami yang dihasilkan oleh bakteri. Karakteristik bakteri berbentuk bulat, tepi rata, dan memiliki permukaan yang cembung.

Temuan ini juga didukung oleh penelitian Fadila dkk. (2025) yang menyebutkan, koloni bakteri hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bentuk bulat serta tidak beraturan, tepi rata hingga sedikit bergelombang, serta variasi

warna putih dari putih susu hingga putih krem dengan permukaan cembung maupun datar. Ciri-ciri tersebut diduga merupakan karakteristik khas bakteri asam laktat (BAL). Hal ini diperkuat oleh Sulmiyati *et al.* (2018) yang menyatakan, secara makroskopis koloni BAL yang dapat hidup dalam kondisi aerobik dan anaerobik memiliki bentuk bulat, cembung tepi rata, dan memiliki ukuran koloni 1,5-2 mm. Menurut Abidin *et al.* (2024), pengamatan morfologi koloni merupakan tahap awal dalam proses identifikasi bakteri sebelum dilakukan pengujian lanjutan secara mikroskopis maupun biokimia untuk memastikan karakter spesifik masing-masing isolat.

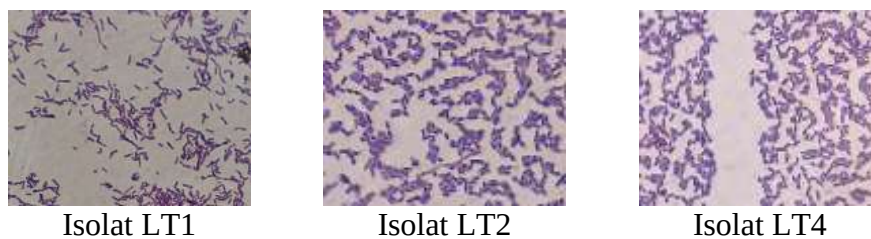
Karakterisasi morfologi koloni dilakukan secara makroskopis maupun mikroskopis untuk mendukung proses identifikasi bakteri asam laktat yang berhasil tumbuh. Isolat yang digunakan merupakan kultur murni hasil proses isolasi sebelumnya. Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk menentukan karakter morfologi sel yang meliputi bentuk dan susunan sel, hasil pewarnaan Gram, serta pewarnaan endospora. Selain itu, dilakukan uji katalase, uji tipe fermentasi, serta uji ketahanan pH sebagai uji pendukung dalam proses identifikasi. Secara umum, identifikasi yang dilakukan pada tahap ini hanya mampu menentukan karakteristik hingga tingkat genus, belum sampai pada tingkat spesies (Surono, 2004 dalam Pertiwi, 2022).

A. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan teknik pewarnaan diferensial yang berperan penting dalam mikrobiologi dan umum digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri ke dalam dua kelompok utama, yaitu Gram positif dan Gram negatif (Asfiya dkk., 2024). Variasi hasil pewarnaan dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri

terhadap reaksi kristal violet dan safranin. Bakteri Gram positif dengan lapisan peptidoglikan tebal mampu mempertahankan kompleks kristal violet dan iodine setelah dekolorisasi, sehingga tampak berwarna ungu. Sedangkan, bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis serta kandungan lipid tinggi. Akibatnya, kompleks warna akan hilang dan bakteri menyerap safranin, sehingga menghasilkan warna merah (Sari dkk., 2025).

Hal ini sejalan dengan pernyataan Kembuan dkk. (2024), bahwa pewarnaan Gram bertujuan untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan perbedaan komposisi dinding selnya. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah setelah proses pewarnaan. Hasil pewarnaan Gram pada bakteri asam laktat dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Hasil pewarnaan Gram. Perbesaran: 1000×, keterangan: bakteri berbentuk batang Gram positif, (dokumentasi pribadi).

Hasil pengamatan mikroskopis pada perbesaran 1000× menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki morfologi sel yang serupa, yaitu berbentuk batang (*basil*) dan berwarna ungu. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat tergolong Gram positif karena mampu mempertahankan *crystal violet* setelah dekolorisasi dengan alkohol. Temuan ini sesuai dengan pernyataan Wardi dkk. (2025), bahwa isolat bakteri asam

laktat memiliki karakteristik sel berbentuk batang, bersifat non motil, dan termasuk kelompok jenis bakteri Gram positif.

Hal ini diperkuat oleh pernyataan Hasanah & Wahid (2025) yang menjelaskan bahwa pada proses pewarnaan Gram, bakteri Gram positif tampak berwarna ungu karena memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan tebal dan kandungan lipid yang rendah. Kondisi tersebut menyebabkan dinding sel mengalami dehidrasi ketika peluruhan dengan alkohol, sehingga pori-pori menyempit dan permeabilitas menurun. Hal ini mengakibatkan pewarna utama *crystal violet* tetap terperangkap di dalam sel dan tidak dapat keluar selama proses pencucian. Oleh karena itu, bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna ungu setelah proses pewarnaan dibandingkan dengan bakteri Gram negatif, sebagaimana dapat dilihat pada hasil pengamatan isolat pada (Gambar 4.2).

B. Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengamati keberadaan struktur endospora pada sel bakteri sebagai salah satu karakteristik yang digunakan dalam proses identifikasi bakteri. Metode ini menggunakan dua zat warna diferensial, yaitu *Malachite green* sebagai pewarna utama dan safranin sebagai pewarna kontras. *Malachite green* dapat menembus lapisan endospora melalui proses pemanasan, sehingga akan tampak berwarna hijau, sedangkan safranin mewarnai sel vegetatif menjadi merah. Perbedaan afinitas kedua zat warna tersebut memungkinkan endospora dan sel vegetatif dapat dibedakan dengan jelas secara mikroskopis (Hapiwaty dkk., 2025). Hasil pengamatan pewarnaan endospora isolat bakteri asam laktat disajikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Hasil pewarnaan endospora. Perbesaran: 1000×, keterangan: warna merah (negatif endospora), (dokumentasi pribadi).

Hasil pewarnaan endospora terhadap ketiga isolat bakteri asam laktat yang berasal dari limbah cair tahu bersifat negatif terhadap pembentukan endospora. Hal ini ditandai dengan tidak ditemukannya struktur endospora berwarna hijau pada pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan menggunakan *Malachite green* dan safranin. Seluruh sel tampak berwarna merah akibat penyerapan safranin sebagai pewarna kontras, tanpa adanya struktur berbentuk bulat atau oval yang menunjukkan keberadaan endospora. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan bakteri non-sporogenik yang tidak memiliki kemampuan membentuk endospora.

Temuan ini selaras dengan penelitian Kembuan dkk. (2024) yang melaporkan bahwa bakteri asam laktat hanya menunjukkan sel vegetatif berwarna merah pada pewarnaan endospora. Tidak terbentuknya endospora pada BAL berkaitan dengan karakteristik kelompok bakteri ini yang secara umum tidak memiliki kemampuan membentuk struktur dorman sebagai mekanisme pertahanan hidup. Dalam proses pewarnaan endospora, *Malachite green* yang terserap ke dalam sel selama pemanasan akan mudah terlepas saat pencucian karna tidak adanya struktur endospora yang mampu mempertahankan pewarna tersebut. Akibatnya, sel vegetatif menyerap safranin dan tampak berwarna merah. Karakteristik ini sesuai dengan sifat umum bakteri asam laktat yang tidak

membentuk endospora dan tetap berada dalam bentuk sel vegetatif selama siklus pertumbuhannya.

C. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang berperan menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Penambahan larutan H_2O_2 3% pada pengujian ini digunakan sebagai substrat untuk mendeteksi aktivitas enzim katalase pada sel bakteri. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas setelah penambahan H_2O_2 3% yang menunjukkan adanya aktivitas enzim katalase. Sebaliknya, hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas yang mengindikasikan tidak adanya aktivitas enzim katalase (Yanto dkk., 2021). Uji katalase merupakan salah satu metode karakterisasi yang digunakan untuk membedakan bakteri katalase positif dan katalase negatif, termasuk BAL yang umumnya bersifat katalase negatif (Suderajad dkk., 2025). Hasil pengamatan disajikan pada Gambar 4.4.



Isolat LT1



Isolat LT2



Isolat LT4

Gambar 4.4. Hasil uji katalase, keterangan: katalase negatif, (dokumentasi pribadi).

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa ketiga isolat BAL bersifat katalase negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas setelah penambahan larutan H_2O_2 3% pada koloni bakteri. Tidak terbentuknya gelembung menunjukkan bahwa isolat tidak menghasilkan enzim katalase yang berperan dalam menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hasil tersebut memperkuat bahwa seluruh isolat termasuk bakteri asam laktat yang umumnya memiliki sifat katalase negatif.

Uji katalase pada bakteri asam laktat umumnya menunjukkan hasil negatif karena sebagian besar BAL tidak menghasilkan enzim katalase atau tidak memiliki sistem enzim katalase yang fungsional untuk menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Menurut Gifari dkk. (2022) secara fisiologis, BAL memperoleh energi melalui fermentasi karbohidrat sehingga umumnya tidak memerlukan sistem enzim antioksidan yang kompleks seperti pada bakteri aerob. Oleh karena itu, sebagian besar BAL menunjukkan reaksi katalase negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelombang gas setelah penambahan H_2O_2 .

Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian Aýun dkk. (2023), yang melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat menunjukkan hasil katalase negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas setelah penambahan H_2O_2 . Adapun, terbentuknya gelembung gas pada uji katalase menunjukkan adanya aktivitas enzim katalase yang menguraikan H_2O_2 dan menghasilkan oksigen.

Menurut Harahap dkk. (2024), salah satu karakteristik BAL adalah bersifat katalase negatif sehingga tidak mampu menguraikan H_2O_2 melalui aktivitas enzim katalase. Enzim katalase berperan dalam mendetoksifikasi hidrogen peroksida yang merupakan senyawa oksidatif reaktif dan berpotensi merusak komponen sel, seperti

protein, lipid, dan asam nukleat. Oleh karena itu, tidak terbentuknya gelembung gas pada ketiga isolat BAL dalam penelitian ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh memiliki karakteristik bakteri asam laktat yang bersifat katalase negatif.

D. Uji Tipe Fermentasi

Pengujian tipe fermentasi digunakan untuk mengklasifikasikan isolat bakteri asam laktat menjadi tipe homofermentatif atau heterofermentatif berdasarkan produk fermentasi yang dihasilkan. Hasil uji fermentasi menunjukkan kelompok homofermentatif memproduksi asam laktat sebagai hasil fermentasi utama. Berbeda dengan heterofermentatif yang menghasilkan asam laktat disertai senyawa lain, seperti asam asetat, etanol, dan karbon dioksida (Finanda dkk., 2021). Hasil dari uji tipe fermentasi disajikan dalam Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Hasil uji tipe fermentasi, keterangan: Homofermentatif, (dokumentasi pribadi).

Hasil pengamatan uji fermentasi menunjukkan bahwa ketiga isolat tidak membentuk gelembung gas pada tabung Durham selama masa inkubasi. Tidak terbentuknya gas mengindikasikan bahwa seluruh isolat tergolong bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi gula dengan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama tanpa disertai pembentukan gas. Pernyataan ini selaras dengan penelitian Teul dkk. (2023) yang menunjukkan

bahwa isolat BAL tanpa pembentukan gelembung pada tabung Durham tergolong dalam kelompok homofermentatif.

Secara fisiologis, bakteri homofermentatif memetabolisme glukosa melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) atau glikolisis. Melalui jalur tersebut, glukosa diubah menjadi piruvat yang selanjutnya direduksi menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase, sehingga asam laktat menjadi produk utama fermentasi tanpa menghasilkan gas CO₂ dalam jumlah signifikan (Helilusiatiningsih dkk., 2024). Menurut Suardana dkk. (2018) dalam Putri dkk. (2024), bakteri homofermentatif tidak menghasilkan CO₂ selama proses fermentasi karena tidak memiliki aktivitas enzim yang berperan dalam pembentukan CO₂ dari piruvat. Akibatnya, jalur metabolisme lebih didominasi oleh reduksi piruvat menjadi asam laktat, sehingga tidak terbentuk produk samping berupa gas karbon dioksida.

E. Uji Ketahanan pH

Uji ketahanan terhadap pH bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri asam laktat dalam mempertahankan viabilitas dan aktivitas metabolisme pada kondisi lingkungan dengan tingkat keasamaan yang rendah. Ketahanan terhadap kondisi asam merupakan salah satu karakteristik fisiologis utama BAL yang mendukung kelangsungan hidupnya selama proses fermentasi. Kemampuan tersebut dikonfirmasi melalui hasil pengujian yang menunjukkan bahwa isolat mampu tumbuh pada kondisi asam, ditandai dengan terbentuknya endapan di dasar tabung serta meningkatnya kekeruhan media setelah inkubasi (Aýun dkk., 2023). Hasil pengamatan uji ketahanan pH disajikan pada Tabel 4.2 dan Lampiran 6.

Tabel 4.2. Pertumbuhan isolat bakteri asam laktat pada berbagai kondisi pH

No.	Karakteristik	Kode Isolat					
		LT 1		LT 2		LT 4	
		1	2	1	2	1	2
1.	pH 2	+	+	+	+	+	+
2.	pH 5	+	+	+	+	+	+
3.	pH 7	+	+	+	+	+	+
4.	pH 9	–	–	–	–	–	–

Keterangan:

LT = Limbah Tahu

(–) = Tidak ada pertumbuhan (media jernih)

(+) = Ada pertumbuhan

Pengujian ketahanan pH pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif, sehingga pertumbuhan isolat ditentukan berdasarkan perubahan visual pada media setelah inkubasi, yaitu tingkat kekeruhan dan pembentukan endapan. Kekeruhan media menunjukkan adanya pertumbuhan sel bakteri selama inkubasi (Aýun dkk., 2023). Oleh karena itu, hasil pengamatan diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu tidak ada pertumbuhan (–) dan ada (+) (Medaando dkk., 2024).

Hasil pengujian ketahanan pH menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri asam laktat (LT1, LT2 dan LT4) mampu tumbuh pada media dengan pH 2,5, dan 7, ditandai dengan terbentuknya kekeruhan dan endapan setelah inkubasi. Sedangkan, seluruh isolat tidak menunjukkan pertumbuhan pada pH 9, ditandai dengan media yang tetap jernih tanpa terbentuknya endapan. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa ketiga isolat memiliki kemampuan beradaptasi pada kondisi asam hingga netral, tetapi tidak mampu bertahan pada kondisi basa.

Temuan tersebut mengindikasikan bahwa ketiga isolat mampu bertahan pada kondisi lingkungan asam hingga netral, tetapi tidak mampu tumbuh pada kondisi basa. Secara fisiologis, bakteri asam laktat umumnya tumbuh pada kisaran

pH asam hingga netral (pH 2–7) dan tidak dapat tumbuh secara optimal pada kondisi basa (pH 9) (Medaando dkk., 2024). Hasil penelitian ini sejalan dengan Ayun dkk. (2023) yang melaporkan bahwa isolat BAL pada media MRSB dengan variasi pH tetap mampu bertahan pada kondisi asam, ditandai dengan meningkatnya kekeruhan pada media setelah inkubasi.

Hal tersebut diperkuat oleh penelitian Lena dkk. (2025) yang menyatakan bahwa BAL memiliki rentang toleransi yang luas terhadap kondisi asam. Kemampuan tersebut memungkinkan BAL tetap mempertahankan viabilitas dan aktivitas metabolismenya meskipun berada dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal. Pertumbuhan isolat pada penelitian ini ditunjukkan oleh peningkatan kekeruhan media dan terbentuknya endapan setelah inkubasi yang mengindikasikan bahwa sel bakteri masih mampu hidup dan berkembang pada kondisi pH tertentu.

F. Karakteristik Genus Bakteri Asam Laktat Berdasarkan *Bergey's 1994*

Berdasarkan karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, serta uji biokimia, ketiga isolat bakteri asam laktat dari limbah cair tahu menunjukkan ciri-ciri yang sesuai dengan kelompok BAL sebagaimana dijelaskan dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ketiga isolat menunjukkan morfologi sel berbentuk batang, bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, serta menunjukkan reaksi negatif pada uji katalase. Adapun ketiga isolat juga menunjukkan pola fermentasi homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk utama.

Karakteristik tersebut selaras dengan deskripsi dalam *Bergey's Manual* (1994), bahwa genus *Lactobacillus* adalah bakteri Gram positif yang memiliki bentuk batang (*basil*), tersusun berpasangan atau membentuk rantai pendek hingga

panjang. Beberapa spesies juga dideskripsikan memiliki bentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran $0,5-1,2 \times 1,0-10,0 \mu\text{m}$. Genus ini tidak membentuk spora serta bersifat non-motil.

Secara fisiologis, pertumbuhan di permukaan media umumnya kurang optimal karena sebagian besar spesies bersifat mikroaerofilik atau anaerob fakultatif. Koloni pada media padat umumnya berwarna putih, tepi rata, dan tidak berpigmen. *Lactobacillus* mampu memfermentasi karbohidrat melalui jalur homofermentatif maupun heterofermentatif. Jalur homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama, sementara jalur heterofermentatif memproduksi asam laktat disertai produk lain berupa asetat, propionat, atau butirat, serta alkohol dan karbon dioksida. Produksi enzim katalase umumnya negatif, meskipun beberapa spesies dapat menunjukkan aktivitas yang lemah atau bervariasi.

Berdasarkan kesesuaian karakter morfologi dan biokimia yang diamati, ketiga isolat diduga dapat diklasifikasikan ke dalam genus *Lactobacillus*. Identifikasi ini menegaskan bahwa limbah cair tahu berpotensi menjadi sumber alami bakteri asam laktat dengan karakter fisiologis yang khas. Genus *Lactobacillus* diketahui banyak ditemukan pada bahan pangan fermentasi dan lingkungan yang kaya substrat karbohidrat, sehingga keberadaannya pada limbah cair tahu menunjukkan kesesuaian kondisi lingkungan dengan kebutuhan pertumbuhan bakteri tersebut.

4.2 Uji Aktivitas Bakteriosin

Bakteriosin adalah metabolit sekunder yang diproduksi oleh bakteri asam laktat (BAL) dengan aktivitas antibakteri, sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai agen biopreservatif alami (Nadzifah, 2022). Isolat BAL yang digunakan

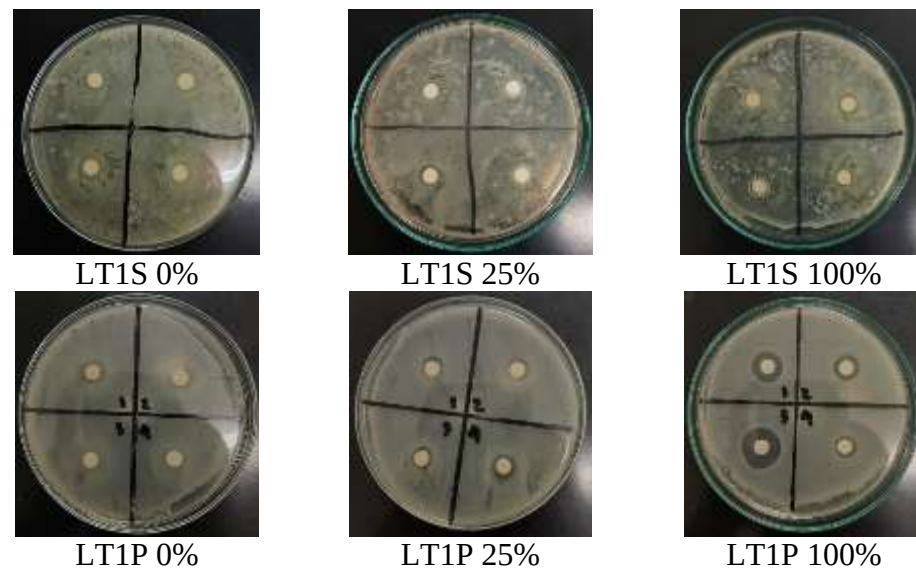
dalam penelitian ini diperoleh dari hasil isolasi limbah cair tahu. Sebanyak enam isolat BAL berhasil diperoleh dari limbah cair tahu. Setelah dilakukan proses pemurnian, hanya tiga isolat, yaitu LT1, LT2, LT4 yang menunjukkan pertumbuhan koloni yang optimal, morfologi yang seragam, serta tidak terindikasi kontaminasi sehingga dipilih untuk tahap karakterisasi lebih lanjut. Penggunaan isolat murni diperlukan untuk memastikan bahwa karakteristik fisiologis dan biokimia yang diamati berasal dari satu jenis mikroorganisme sehingga hasil identifikasi menjadi lebih akurat (Jufri, 2020).

Aktivitas bakteriosin diuji menggunakan metode difusi cakram dengan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri indikator. Terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram pada media yang telah diinokulasi bakteri uji menunjukkan aktivitas antibakteri. Menurut Hasan & Wikandari (2018) luasnya zona hambat yang terbentuk mengindikasikan tingkat kemampuan bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri indikator. Tingkat daya hambat dikategorikan berdasarkan kriteria Davis & Stout (1971) dalam Sarmira dkk. (2021) sebagai berikut:

Tabel 4.3. Kategori zona hambat

Diameter zona hambat	Kategori zona hambat
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

Zona hambat diukur berdasarkan diameter dalam satuan milimeter (mm) (Wendersteyt dkk., 2021). Hasil pengamatan aktivitas bakteriosin terhadap bakteri uji disajikan pada gambar 4.6 berikut:



Gambar 4.6. Hasil uji zona hambat, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari ekstrak kasar bakteriosin. Keterangan: LT1S (isolat dengan bakteri *S. aureus*); LT1P (isolat dengan bakteri *P. aeruginosa*), (dokumentasi pribadi).

Hasil uji aktivitas bakteriosin menunjukkan respon positif yang ditandai oleh terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram (Gambar 4.6). Nilai rata-rata diameter zona hambat isolat LT1S disajikan pada Tabel 4.4 berikut.

Tabel 4.4. Diameter zona hambat bakteriosin isolat LT1S terhadap *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	Kategori	Notasi
LT1S 0%	0,00 $\pm$ 0,00	Lemah	a
LT1S 25%	3,80 $\pm$ 1,27	Lemah	ab
LT1S 50%	3,78 $\pm$ 0,39	Lemah	ab
LT1S 75%	3,90 $\pm$ 0,54	Lemah	ab
LT1S 100%	4,45 $\pm$ 0,83	Lemah	ab
Kontrol + (kloramfenikol)	29,78 $\pm$ 2,76	Sangat kuat	b

Keterangan: Data disajikan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi (n = 4). Huruf berbeda pada kolom notasi menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji *Pairwise Comparisons* dengan koreksi Bonferroni ($p < 0,05$).

Hasil uji aktivitas bakteriosin dari isolat LT1S terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan terbentuknya zona hambat pada seluruh perlakuan, kecuali kontrol negatif (0%). Hal ini ditandai dengan terbentuknya area jernih di sekitar cakram (Gambar 4.6). Nilai rata-rata diameter zona hambat menunjukkan variasi antar konsentrasi perlakuan. Rata-rata diameter zona hambat mengalami penurunan pada konsentrasi 50%, kemudian meningkat kembali pada konsentrasi 75% dan 100%. Meskipun demikian, seluruh perlakuan bakteriosin masih tergolong dalam kategori lemah. Hanya kontrol positif (kloramfenikol) yang menghasilkan rata-rata diameter zona hambat terbesar, yaitu 29,78 $\pm$ 2,76 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

Variasi nilai rata-rata diameter zona hambat menunjukkan diperlukannya analisis statistik untuk mengevaluasi signifikansi perbedaan antar perlakuan. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa sebagian data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$) (Lampiran 4), sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Hasil Uji Kruskal-Wallis Diameter Zona Hambat Isolat LT1S terhadap *Staphylococcus aureus*

Variabel	χ^2	df	p-value
Konsentrasi LT1S	16.944	5	0,005

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi 0,005 ($p < 0,05$), sehingga berdasarkan hasil uji terdapat adanya perbedaan diameter zona hambat yang signifikan antar perlakuan konsentrasi bakteriosin dan kontrol positif. Nilai *mean rank* menunjukkan bahwa kontrol positif (kloramfenikol) memiliki nilai tertinggi, sedangkan perlakuan 0% memiliki nilai terendah. Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan memengaruhi kemampuan penghambatan terhadap bakteri uji, meskipun tidak seluruh tingkat konsentrasi menunjukkan perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hal tersebut, analisis dilanjutkan dengan uji *Pairwise Comparisons* sebagai uji lanjutan (*post hoc*) pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ untuk mengidentifikasi perlakuan yang menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik.

Hasil uji *Pairwise Comparisons* menunjukkan bahwa sebagian besar perlakuan tidak memiliki perbedaan efektivitas yang signifikan setelah koreksi Bonferroni. Perbedaan nyata hanya ditemukan antara perlakuan konsentrasi 0% dan kontrol positif (Adj. Sig. = 0,001 < 0,05). Sementara itu, perbandingan antar konsentrasi bakteriosin (25%, 50%, 75%, dan 100%) maupun perbandingannya dengan konsentrasi 0% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

Hasil tersebut mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi bakteriosin dari 25% hingga 100% belum mampu meningkatkan efektivitas daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara signifikan. Meskipun

diameter zona hambat cenderung meningkat seiring bertambahnya konsentrasi bakteriosin isolat LT1S. Namun, secara statistik pengaruh perubahan konsentrasi tersebut belum memberikan perbedaan yang signifikan pada seluruh perlakuan konsentrasi bakteriosin yang diuji.

Tidak signifikannya sebagian besar perbandingan antar perlakuan diduga disebabkan oleh variasi data antar ulangan yang relatif tinggi. Selain itu, nilai diameter zona hambat pada beberapa konsentrasi menunjukkan perbedaan yang relatif kecil dan saling berdekatan. Kondisi tersebut menyebabkan perbedaan efektivitas antibakteri pada setiap tingkat konsentrasi belum cukup kuat untuk terdeteksi sebagai perbedaan yang signifikan secara statistik (Rizki dkk., 2022).

Selain variasi data antar ulangan, hasil pengujian juga dapat dipengaruhi oleh metode difusi cakram yang digunakan. Aktivitas antibakteri pada metode ini bergantung pada kemampuan senyawa untuk berdifusi ke dalam media agar. Oleh karena itu, peningkatan konsentrasi tidak selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat yang signifikan. Hafizah dkk. (2024) menyatakan bahwa efektivitas bakteriosin juga dipengaruhi oleh faktor lain, seperti stabilitas senyawa dan karakteristik molekulnya yang dapat memengaruhi proses difusi serta aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil analisis tersebut, selanjutnya disajikan nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh isolat LT1P pada Tabel 4.7 berikut.

Tabel 4.6. Diameter zona hambat bakteriosin isolat LT1P terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	Kategori	Notasi
LT1P 0%	0,00 $\pm$ 0,00	Lemah	a
LT1P 25%	4,00 $\pm$ 0,53	Lemah	ab
LT1P 50%	4,73 $\pm$ 0,51	Lemah	ab
LT1P 75%	5,65 $\pm$ 2,10	Sedang	ab
LT1P 100%	7,35 $\pm$ 3,82	Sedang	ab
Kontrol + (ciprofloxacin)	28,22 $\pm$ 1,09	Sangat kuat	b

Keterangan: Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi ($n = 4$). Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji *Pairwise Comparisons* dengan koreksi Bonferroni ($p < 0,05$).

Hasil uji aktivitas bakteriosin isolat LT1P terhadap *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan terbentuknya zona hambat pada seluruh perlakuan kecuali kontrol negatif. Rata-rata diameter zona hambat meningkat dari 4,00 $\pm$ 0,53 mm pada konsentrasi 25% hingga 7,35 $\pm$ 3,82 mm pada konsentrasi 100%. Kategori aktivitas antibakteri meningkat dari lemah menjadi sedang pada konsentrasi 75% dan 100%. Kontrol positif (ciprofloxacin) menunjukkan zona hambat sebesar 28,22 $\pm$ 1,09 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

Rata-rata diameter zona hambat menunjukkan kecenderungan meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi bakteriosin. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi ($p > 0,05$), sehingga data dinyatakan berdistribusi normal (Lampiran 5). Namun, analisis tetap dilakukan menggunakan uji Kruskal-Wallis karena terdapat kelompok dengan data konstan pada kontrol negatif, serta jumlah sampel yang relatif kecil ($n = 4$), Hasil uji disajikan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil Uji Kruskal-Wallis Diameter Zona Hambat Isolat LT1P terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Variabel	χ^2	df	p-value
Konsentrasi LT1P	17,517	5	0,004

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,004 ($p < 0,05$). Hal ini mengindikasikan adanya perbedaan diameter zona hambat antar konsentrasi bakteriosin isolat LT1P terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan nilai *mean rank*, terdapat adanya kecenderungan peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi bakteriosin. Konsentrasi 0% memiliki nilai terendah, diikuti oleh 25%, 50%, 75%, dan 100%, sedangkan kontrol positif menunjukkan nilai tertinggi (Lampiran 5).

Analisis dilanjutkan menggunakan uji *Pairwise Comparisons* sebagai uji lanjut (*post hoc*) pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$. Hasil uji menunjukkan bahwa tidak seluruh perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Perbedaan nyata hanya ditemukan antara perlakuan konsentrasi 0% dan kontrol positif ($p < 0,05$), sedangkan perbandingan antar konsentrasi bakteriosin (25%, 50%, 75%, dan 100%) maupun perbandingannya dengan konsentrasi 0% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan setelah koreksi Bonferroni ($p > 0,05$). Tidak terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 0% mengindikasikan bahwa pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga daya hambat yang teramati pada kelompok perlakuan berasal dari bakteriosin (Sinarsih dkk., 2021). Hal ini selaras dengan Wendersteyt dkk. (2021) yang menyatakan bahwa kontrol negatif berfungsi untuk memastikan pelarut tidak memengaruhi pertumbuhan mikroba, sehingga aktivitas antibakteri yang teramati benar-benar berasal dari senyawa aktif sampel.

Peningkatan konsentrasi bakteriosin isolat LT1P cenderung meningkatkan daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, namun tidak menunjukkan pola peningkatan yang stabil pada seluruh perlakuan. Variasi data antar ulangan yang relatif tinggi, terutama pada konsentrasi 75% dan 100%, menyebabkan nilai diameter zona hambat antar perlakuan saling berdekatan sehingga perbedaannya tidak terdeteksi signifikan secara statistik. Selain itu, penggunaan bakteriosin dalam bentuk ekstrak kasar yang belum dimurnikan juga berpotensi memengaruhi hasil, karena masih mengandung berbagai metabolit lain yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri, sehingga peningkatan daya hambat tidak selalu berlangsung secara linier (Mu *et al.*, 2024).

Hasil pengujian aktivitas bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.6, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi bakteriosin diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin tinggi konsentrasi bakteriosin yang diaplikasikan, maka semakin luas area penghambatan yang terbentuk. Temuan ini sejalan dengan penelitian Fauziah dkk. (2015) yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* diikuti oleh peningkatan kemampuan menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Surapati & Sari (2025) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin luas zona hambat yang terbentuk, meskipun tidak selalu menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

Bakteriosin dari isolat limbah cair tahu menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Namun, aktivitas penghambatan yang dihasilkan cenderung lebih besar

terhadap *P. aeruginosa*. Perbedaan aktivitas penghambatan tersebut menunjukkan adanya variasi sensitivitas bakteri terhadap bakteriosin yang dihasilkan. Variasi tersebut diduga berkaitan dengan perbedaan struktur dan komposisi permukaan sel bakteri, termasuk karakteristik dinding sel, membran sel, serta keberadaan reseptor atau mekanisme pertahanan tertentu yang dapat memengaruhi interaksi bakteriosin dengan sel target (Rahayu & Latifah, 2026).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), sehingga secara umum mampu menghambat masuknya berbagai senyawa antimikroba (Afifah dkk., 2024). Selain itu, ruang periplasma pada bakteri Gram negatif mengandung berbagai enzim dan protein transpor yang berperan dalam meningkatkan resistensi terhadap agen antimikroba (Sim dkk., 2021). Struktur dinding sel Gram negatif tidak mengandung asam teikoat yang umumnya berperan sebagai reseptor bakteriosin pada bakteri Gram positif, sehingga dapat memengaruhi sensitivitas bakteri terhadap bakteriosin (Syarifah dkk., 2018).

Meskipun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan bakteriosin lebih tinggi terhadap *P. aeruginosa*. Kondisi tersebut diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa bioaktif dalam ekstrak bakteriosin yang mampu meningkatkan permeabilitas atau mengganggu stabilitas membran luar bakteri Gram negatif (Rahayu & Latifah, 2026). Falakh & Asri (2022) menyatakan bahwa gangguan pada membran luar memungkinkan senyawa antimikroba berinteraksi lebih efektif dengan membran sitoplasma, sehingga meningkatkan efek penghambatan terhadap bakteri target.

Sementara itu, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal tanpa membran luar, sehingga secara struktural umumnya lebih mudah ditembus oleh senyawa antimikroba (Ramdani dkk., 2025). Namun, pada penelitian ini daya hambat bakteriosin terhadap *S. aureus* lebih rendah dibandingkan *P. aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas bakteri tidak hanya ditentukan oleh ada tidaknya membran luar, tetapi juga oleh karakteristik dinding sel dan respons fisiologis masing-masing bakteri terhadap senyawa antimikroba. Selaras dengan itu, Poeloengan & Andriani (2013) menyatakan bahwa sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap senyawa antimikroba juga dipengaruhi oleh karakteristik dinding selnya yang mengandung sekitar 50% peptidoglikan dan tersusun secara kompleks.

Aktivitas bakteriosin yang ditunjukkan melalui terbentuknya zona hambat tidak hanya dipengaruhi oleh mekanisme interaksi bakteriosin dengan sel target, tetapi juga oleh kondisi produksinya. Berbagai faktor yang memengaruhi antara lain jenis bakteri penghasil, kondisi fermentasi, pH dan suhu, keberadaan enzim proteolitik, serta komposisi nutrisi pada media pertumbuhan (Todorov & Dicks, 2004; 2005). Selain itu, menurut Sonia & Kusnadi (2015), proses sentrifugasi pada suhu rendah berperan dalam menjaga stabilitas protein dan mencegah denaturasi akibat paparan suhu yang lebih tinggi. Sementara itu, proses penyaringan bertujuan memisahkan supernatan dari sisa-sisa sel bakteri, serta mencegah terjadinya kontaminasi pada supernatan yang dihasilkan (Prissilia dkk., 2019).

Aktivitas antibakteri yang relatif rendah pada penelitian ini juga dapat dipengaruhi oleh penggunaan ekstrak bakteriosin yang belum melalui tahap pemurnian. Sidabutar dkk. (2015), menyatakan bahwa ekstrak bakteriosin yang

telah dimurnikan melalui proses pengendapan menggunakan amonium sulfat menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar. Selain itu, jumlah senyawa antibakteri yang disekresikan juga memengaruhi tingkat kejernihan zona hambat yang terbentuk.

Hal ini diperkuat oleh Kooriparambil *et al.* (2026) yang menyebutkan bahwa proses pemurnian parsial melalui pengendapan amonium sulfat dan dialisis mampu meningkatkan aktivitas spesifik bakteriosin. Proses tersebut terjadi seiring dengan berkurangnya kandungan protein non-target dalam ekstrak. Peningkatan kemurnian tersebut kemudian berdampak pada meningkatnya aktivitas spesifik bakteriosin, sehingga efek penghambatan terhadap bakteri uji menjadi lebih optimal.

Sebagai kontrol pembanding, kontrol positif menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi karena mengandung agen antibakteri yang telah terstandarisasi. Penggunaan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat sebesar $29,78 \pm 2,76$ mm, sedangkan ciprofloxacin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan zona hambat sebesar $28,22 \pm 1,09$ mm, keduanya tergolong dalam kategori sangat kuat (Tabel 4.4 dan Tabel 4.6). Kedua antibiotik tersebut digunakan sebagai parameter dalam menilai efektivitas zat uji terhadap masing-masing bakteri. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas kloramfenikol terhadap *S. aureus* relatif lebih tinggi dibandingkan ciprofloxacin terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Pemilihan kloramfenikol sebagai kontrol positif didasarkan pada sifatnya sebagai antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Mengko dkk., 2022). Sementara itu, ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian terhadap *P. aeruginosa* karena

memiliki efektivitas yang tinggi terhadap bakteri Gram negatif. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat enzim DNA gyrase dan topoisomerase IV yang berperan dalam proses replikasi DNA, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Safari & Rini, 2025).

4.3 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian KHM dan KBM dilakukan guna mengetahui potensi bakteriosin dalam menghambat serta membunuh bakteri uji. Menurut Achmad dkk. (2025) penetapan nilai KHM dilakukan pada konsentrasi terendah yang menghasilkan media tetap jernih tanpa pertumbuhan bakteri. Sementara, nilai KBM ditentukan pada konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri pada media agar. Penetapan nilai KHM dan KBM dilakukan secara deskriptif melalui pengamatan kejernihan media, serta pertumbuhan koloni bakteri yang selanjutnya digunakan sebagai indikator kemampuan ekstrak dalam menghambat dan membunuh bakteri uji. Hasil uji KHM bakteriosin terhadap bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 4.7 di bawah ini.



Gambar 4.7. Hasil Uji KHM Bakteriosin Isolat LT1S dan LT1P terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak bakteriosin dianggap tidak representatif, karena pada seluruh konsentrasi yang diuji masih tampak adanya kekeruhan pada media yang menandakan terjadinya pertumbuhan bakteri. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara optimal belum dapat diidentifikasi. Hal ini selaras dengan Manurung dkk. (2025) yang menyatakan bahwa adanya kekeruhan pada berbagai konsentrasi ekstrak menunjukkan pertumbuhan bakteri masih berlangsung, sehingga nilai KHM tidak dapat ditentukan.

Sebaliknya, pada kondisi tertentu nilai KHM ditetapkan berdasarkan konsentrasi terendah yang menunjukkan kejernihan media sebagai indikator tidak adanya pertumbuhan bakteri, sebagaimana disebutkan pada ekstrak etanol daun kirinyuh terhadap *S. aureus*, konsentrasi 1–3% masih tampak keruh, sedangkan 5–10% tampak menunjukkan kejernihan media (Munira & Nasir, 2023). Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) bakteriosin terhadap bakteri uji disajikan pada Tabel 4.8 sebagai berikut.

Tabel 4.8. Hasil Uji KHM Bakteriosin Isolat LT1S dan LT1P terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Isolat LT1S			Isolat LT1P		
	1	2	3	1	2	3
0%	+	+	+	+	+	+
25%	+	+	+	+	+	+
50%	+	+	+	+	+	+
75%	+	+	+	+	+	+
100%	+	+	+	+	+	+
K. Media	–	–	–	–	–	–
K. Bakteri	+	+	+	+	+	+
K. Akuades	+	+	+	+	+	+
K. Antibiotik	+	+	+	–	–	–

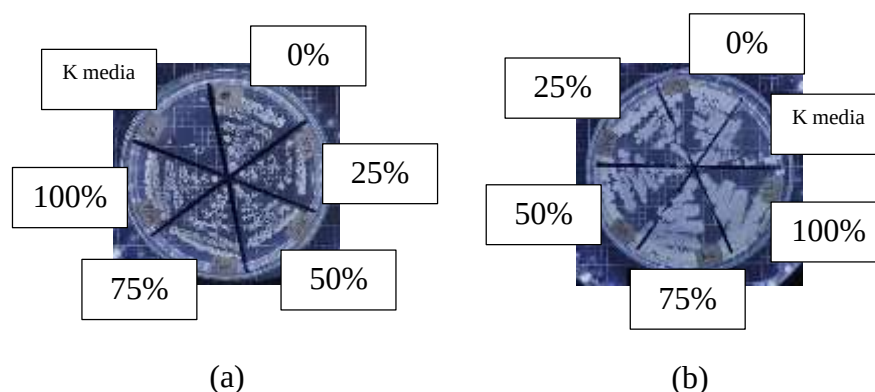
Keterangan: (+) = Ada pertumbuhan; (–) = Tidak ada pertumbuhan

Hasil pengujian KHM setelah inkubasi selama 24 jam menunjukkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh isolat LT1S terhadap *S. aureus*, serta isolat LT1P terhadap *P. aeruginosa* masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada seluruh konsentrasi perlakuan (0%–100%) yang ditandai dengan simbol (+). Kondisi tersebut juga terlihat pada kontrol bakteri dan kontrol akuades, sedangkan kontrol media menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (–) yang mengonfirmasi bahwa media yang digunakan dalam pengujian steril dan bebas kontaminasi. Sementara itu, kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol dan ciprofloxacin menunjukkan adanya perbedaan hasil, yaitu masih terdapat pertumbuhan pada *S. aureus* (+), sedangkan pada *P. aeruginosa* tidak ditemukan pertumbuhan (–).

Hasil tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi bakteriosin yang digunakan belum mencapai kadar minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Perbedaan hasil pada kontrol positif menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi terhadap

antibiotik yang digunakan dibandingkan *S. aureus* pada kondisi pengujian ini. Secara keseluruhan, bakteriosin yang dihasilkan belum menunjukkan aktivitas penghambatan yang efektif terhadap kedua bakteri uji, ditandai dengan masih teramatinya pertumbuhan bakteri pada seluruh konsentrasi perlakuan.

Hasil tersebut selaras dengan penelitian Husna dkk. (2024), bahwa filtrat *Lactobacillus gasseri* mampu menghambat *S. aureus* pada kisaran konsentrasi >20% dan <40%, meskipun tidak diperoleh. Penelitian tersebut menunjukkan adanya kecenderungan penurunan jumlah bakteri seiring dengan peningkatan konsentrasi bakteriosin. Namun, pada penelitian ini pertumbuhan bakteri masih teramati pada seluruh konsentrasi yang diuji. Berdasarkan hasil pengujian KHM yang diperoleh, belum dapat ditentukan adanya efek bakteriostatik dari bakteriosin yang dihasilkan. Selanjutnya, hasil pengujian KBM bakteriosin disajikan pada Gambar 4.8 di bawah ini.



Gambar 4.8. Hasil uji KBM terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, keterangan: (a) Isolat LT1S; (b) Isolat LT1P.

Variasi respons bakteri terhadap bakteriosin dipengaruhi oleh jenis bakteri uji, karena bakteriosin umumnya memiliki spektrum aktivitas yang sempit dan bersifat spesifik terhadap *strain* tertentu. Menurut Raningsih dkk. (2021),

efektivitas bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bergantung pada spesies penghasil dan targetnya. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang menunjukkan perbedaan sensitivitas terhadap bakteriosin. Namun demikian, variasi respons tersebut tidak hanya disebabkan oleh spesifisitas bakteriosin, tetapi juga mekanisme pertahanan masing-masing bakteri yang akan memengaruhi efektivitas antibakteri, termasuk dalam pencapaian nilai KHM dan KBM.

Selain jenis bakteri uji, tidak tercapainya nilai KHM dan KBM pada penelitian ini menunjukkan bahwa bakteriosin yang digunakan belum mampu menghambat pertumbuhan maupun membunuh pertumbuhan bakteri secara efektif. Kondisi tersebut diduga dipengaruhi oleh faktor seperti konsentrasi bakteriosin yang digunakan belum mencapai dosis efektif. Temuan ini selaras dengan Achmad dkk. (2025) yang menyebutkan bahwa ekstrak daun *Carica papaya* L. mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, namun belum menunjukkan efek bakterisidal pada konsentrasi hingga 20%. Meskipun mengandung senyawa aktif, seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin sebagai agen antibakteri, konsentrasi tersebut belum cukup untuk merusak sel bakteri secara permanen.

Selain itu, stabilitas bakteriosin juga memengaruhi aktivitas antibakterinya, karena senyawa ini sensitif terhadap kondisi lingkungan, seperti pH, suhu, serta keberadaan enzim proteolitik yang dapat menurunkan aktivitas bakteriosin. Menurut Falakh & Asri (2022), aktivitas hambatan bakteriosin bervariasi akibat faktor, seperti pH, sumber karbon, suhu, serta fase pertumbuhan bakteri. Kondisi lingkungan yang kurang optimal dapat menyebabkan aktivitas antibakteri tidak maksimal. Selain itu, ketersediaan nutrisi khususnya sumber karbon dan nitrogen

dalam media mendukung proliferasi sel bakteri asam laktat, sehingga turut memengaruhi aktivitas bakteriosin.

Sementara itu, penggunaan ekstrak bakteriosin yang belum dimurnikan (*crude extract*) juga dapat menyebabkan kandungan senyawa aktif relatif rendah, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan belum optimal. Hal ini diperkuat oleh Akhdiya & Susilowati (2008) dalam Sidabutar dkk. (2015) yang menunjukkan bahwa melalui proses pemurnian parsial menggunakan presipitasi amonium sulfat 80%, aktivitas antibakteri bakteriosin dapat meningkat dibandingkan dengan tanpa perlakuan tersebut. Peningkatan daya hambat ini mengindikasikan bahwa pemurnian parsial mampu meningkatkan konsentrasi senyawa aktif bakteriosin, sehingga efektivitas antibakterinya menjadi lebih tinggi.

4.4 Kajian Integrasi Islam mengenai Aktivitas Bakteriosin Limbah Cair Tahu terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteriosin adalah protein bioaktif dengan berat molekul relatif rendah yang memiliki mekanisme kerja bakteriostatik maupun bakterisidal. Aktivitas antibakteri senyawa ini umumnya lebih efektif terhadap bakteri yang memiliki kekerabatan dekat dengan bakteri penghasilnya (Shavira dkk., 2022). Bakteri asam laktat dapat diperoleh dari hasil isolasi berbagai sumber, termasuk limbah cair tahu yang selama ini umumnya belum dimanfaatkan secara optimal dan berpotensi menimbulkan permasalahan lingkungan.

Limbah cair hasil proses produksi tahu diketahui mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi menghasilkan bakteriosin sebagai senyawa antibakteri. Pemanfaatan limbah yang memiliki nilai guna merupakan salah satu bentuk pengelolaan sumber daya secara bijaksana dan berkelanjutan. Dalam penelitian ini, BAL yang berhasil diisolasi dari limbah cair tahu menunjukkan

kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai alternatif alami pengganti antibiotik sintetis.

Pemanfaatan sumber daya secara bijak sesuai dengan ajaran Islam yang melarang perilaku mubazir sebagaimana dijelaskan dalam QS. Al-Isra' [17]: 26-27, Allah SWT. berfirman:

وَاتِ ذَا الْقُرْبَىٰ حَقَّهُ وَالْمِسْكِينَ وَابْنَ السَّبِيلِ وَلَا تُبَذِّرْ تَبْذِيرًا ۚ إِنَّ الْمُبَذِّرِينَ كَانُوا
إِخْوَانَ الشَّيْطَانِ ۖ وَكَانَ الشَّيْطَانُ لِرَبِّهِ كَفُورًا ۖ

Artinya: “26. Berikanlah kepada kerabat dekat haknya, (juga kepada) orang miskin, dan orang yang dalam perjalanan. Janganlah kamu menghambur-hamburkan (hartamu) secara boros. 27. Sesungguhnya para pemboros itu adalah saudara-saudara setan dan setan itu sangat ingkar kepada Tuhannya.” (QS. Al-Isra' [17]:26-27) (Kemenag, 2019).

Menurut Al-Mahalli & As-Suyuti (2008), ayat tersebut menegaskan larangan berperilaku boros dan anjuran memanfaatkan nikmat Allah SWT. secara bijaksana. Ajaran tersebut mendorong manusia untuk tidak menyia-nyiakan sumber daya yang masih memiliki nilai guna. Dalam penelitian ini, pemanfaatan *whey* tahu sebagai sumber bakteri asam laktat merupakan salah satu bentuk optimalisasi limbah yang sesuai dengan prinsip menghindari perilaku *mubazir*.

Selain itu, QS. An-Nahl [16]: 8 mengisyaratkan bahwa Allah menciptakan berbagai makhluk yang belum diketahui manfaatnya oleh manusia, Allah SWT. berfirman,

وَالْخَيْلَ وَالْبِغَالَ وَالْحَمِيرَ لِتَرْكَبُوهَا وَزِينَةً وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ۚ

Artinya: “(Dia telah menciptakan) kuda, bagal, 412) dan keledai untuk kamu tunggangi dan (menjadi) perhiasan. Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui. 412) Bagal adalah peranakan kuda dengan keledai.” (QS. An-Nahl [16]:8) (Kemenag, 2019).

Menurut penafsiran Al-Mahalli & As-Suyuti (2008) dijelaskan bahwa frasa

وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ menunjukkan adanya ciptaan Allah yang belum sepenuhnya

diketahui manusia, baik dari segi bentuk maupun manfaatnya. Seiring perkembangan ilmu pengetahuan, berbagai manfaat mikroorganisme semakin banyak diungkap melalui penelitian. Dalam kajian sains modern, bakteri diketahui terdiri dari beragam jenis dengan fungsi yang berbeda-beda. Salah satu kelompok bakterinya adalah bakteri asam laktat. BAL diketahui berperan dalam industri pangan, yakni sebagai agen biopreservatif yang dapat menggantikan bahan pengawet kimia, serta menjaga keseimbangan mikrobiota usus melalui penghambatan pertumbuhan bakteri patogen (Setiarto, 2021; Hasanah & Wahid, 2025). Temuan ini menunjukkan bahwa penelitian ilmiah dapat menjadi sarana untuk mengungkap hikmah dan manfaat yang terkandung dalam ciptaan Allah SWT.

Pemanfaatan makhluk ciptaan Allah untuk kemaslahatan manusia juga dijelaskan dalam QS. Al-Jatsiyah [45]:13, Allah SWT. berfirman,

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمُوتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ ۝

Artinya: “Dia telah menundukkan (pula) untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir.” (QS. Al-Jatsiyah [45]: 13) (Kemenag, 2019).

Menurut Al-Mahalli & As-Suyuti (2014), ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menundukkan berbagai ciptaan di langit dan bumi agar dapat dimanfaatkan oleh manusia. BAL hasil isolasi dari limbah cair tahu yang teridentifikasi sebagai

genus *Lactobacillus* menunjukkan kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri yang diduga berupa bakteriosin yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mikroorganisme yang terdapat pada limbah cair tahu memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan dalam bidang kesehatan dan keamanan pangan. Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* mengindikasikan bahwa limbah yang sebelumnya dianggap tidak bernilai dapat diolah menjadi sumber senyawa bioaktif yang bermanfaat. Temuan ini juga mendukung pendapat Meysari dkk. (2025) bahwa bakteriosin berpotensi menjadi alternatif alami pengganti antibiotik sintetik yang mampu menekan risiko resistensi bakteri.

Berdasarkan kajian integrasi Islam dan sains, penelitian ini menunjukkan bahwa ciptaan Allah SWT. memiliki potensi manfaat yang dapat diungkap melalui ilmu pengetahuan. Kemampuan BAL dari limbah cair tahu dalam menghasilkan bakteriosin dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen menunjukkan bahwa limbah tidak hanya berpotensi mencemari lingkungan, tetapi juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber senyawa bioaktif yang bermanfaat. Temuan ini mencerminkan peran manusia sebagai khalifah dalam mengelola sumber daya secara bijaksana untuk menghadirkan kemaslahatan, sekaligus memperkuat pemahaman bahwa pengembangan ilmu pengetahuan merupakan sarana untuk mengenali hikmah dan kebesaran Allah SWT. dalam setiap ciptaan-Nya.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari limbah cair tahu menghasilkan tiga isolat yang menunjukkan karakteristik makroskopis berupa koloni berbentuk bulat, bertepi rata, berwarna putih susu, dan memiliki elevasi cembung. Secara mikroskopis, isolat menunjukkan sel berbentuk batang (*basil*), bersifat Gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, dan menunjukkan pola fermentasi homofermentatif. Berdasarkan karakteristik tersebut, ketiga isolat yang diidentifikasi diduga termasuk ke dalam genus *Lactobacillus*.
2. Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) dari limbah cair tahu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada metode difusi cakram. Aktivitas penghambatan yang dihasilkan tergolong kategori lemah hingga sedang yang menunjukkan peningkatan diameter zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi bakteriosin.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat ditentukan pada penelitian ini, karena masih ditemukan adanya pertumbuhan bakteri pada seluruh konsentrasi perlakuan. Dengan demikian, bakteriosin yang dihasilkan belum dapat ditentukan adanya efek bakteriostatik.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat BAL dari limbah cair tahu diduga termasuk genus *Lactobacillus*. Penelitian lanjutan dengan pendekatan molekuler diperlukan untuk memperoleh identifikasi isolat yang lebih akurat hingga tingkat spesies.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriosin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, namun daya hambatnya masih tergolong lemah hingga sedang. Penelitian selanjutnya disarankan adanya pemurnian bakteriosin (*partial purification*) untuk meningkatkan aktivitas antibakteri yang dihasilkan.
3. Hasil pengujian KHM dan KBM belum menunjukkan nilai yang representatif terhadap kedua bakteri uji. Pengujian dengan rentang konsentrasi yang lebih sempit diperlukan untuk memperoleh nilai KHM dan KBM yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2012. *Pedoman Kriteria Cemaran pada Pangan Siap Saji dan Pangan Industri Rumah Tangga*. Jakarta: Direktorat SPP, Deputi III, Badan POM RI.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1998. *Susu Segar*. SNI 01-3141-2011. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2012. *Tempe : Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [KEMENAG] Kementerian Agama. 2019. *Qur'an Kementrian Agama*.
- Abdulla, R. A. A. R., & Abd Abo-risha, R. (2024). Evaluation of Some Efflux Pump Genes in *Pseudomonas aeruginosa* and their Relation to Antibiotic Resistance. *Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Sciences*, 37(4):1-8.
- Abdullah, D., Poddar, S., Rai, R. P., Purwati, E., Dewi, N. P., & Pratama, Y. E. (2021). Molecular Identification of Lactic Acid Bacteria An Approach to Sustainable Food Security. *Journal of Public Health Research*, 10(2_suppl), jphr-2021.
- Abidin, Z., La Mudi, R., Hidayat, N., Mentari, S. D., Daryono, D., & Prima, D. (2024). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Rice Washing Water Waste. *International Journal of Science, Technology & Management*, 5(1):184-191.
- Achmad, S., Ibrahim, M., & Lapodi, A. R. (2025). Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Lentera Ilmiah Kesehatan*, 3(2):10-16.
- Admojo, F. T., & Jabir, S. R. (2023). Analisis Performa Metode Naïve Bayesh Classifier pada Electronic Nose dalam Identifikasi Formalin pada Tahu. *Indonesian Journal of Data and Science*, 4(1):1-16.
- Afifah, S. H., Apriliana, E., Setiawan, G., & Berawi, K. N. (2024). Aktivitas Antibakteri *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) Teh Hijau pada Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Medical Profession Journal of Lampung*, 14(12):2330-2335.
- Afriani, N., Yusmarini, Y., & Pato, U. (2017). Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. *JOM FAPERTA*, 4(2):1-12.
- Agusta, A., Faisalma, M. W., & Pramana, O. (2023). Optimasi *Bacillus subtilis* sebagai Agensia *Bio-coating* untuk Meningkatkan Kualitas dan Viabilitas

Benih Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.) *Tropical Microbiome*, 1(1):13-24.

- Aini, M., Rahayuni, S., Mardina, V., Quranayati, Q., & Asiah, N. (2021). Bakteri *Lactobacillus* spp dan Peranannya Bagi Kehidupan. *Jurnal Jeumpa*, 8(2):614-624.
- Ainutajriani, A., Artanti, D., Rohmayani, V., & Kunsah, B. (2024). Karakterisasi Bakteri pada Urine Suspek Infeksi Saluran Kemih Mahasiswa di Universitas Muhammadiyah Surabaya. *Camellia: Clinical, Pharmaceutical, Analytical and Pharmacy Community Journal*, 3(2):213-220.
- Aisyiyah, S., Noval, N., & Rohama, R. (2024). Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*: Antibacterial Activity of Sungkai Leaf Infusion (*Peronema canescens* Jack) Against *Escherichia coli* Bacteria. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 10(2):84-89.
- Akhdiya, A., & Susilowati, D. N. (2008). Aktivitas Penghambatan Bakteriosin dari Aktinomiset terhadap Bakteri Patogen Tanaman Pangan dan Patogen Tular Makanan. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 27(1):55-60.
- Al Gifari, Z., Anwar, K., Rosyidi, A., Ali, M., & Amin, M. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Enzim Fitase sebagai Kandidat Probiotik untuk Ternak unggas. *Syntax Literate; Jurnal Ilmiah Indonesia*, 7(6):8951-8958.
- Alifah, I., Fitriyani, N., Amburika, N., & Adi, N. P. (2024). Analisis Pengaruh Limbah Pabrik Tahu Terhadap Kualitas Air Sungai: Studi Kasus dan Implikasi Terhadap Lingkungan. *Lambda: Jurnal Pendidikan MIPA dan Aplikasinya*, 4(3):185-191.
- Al-Mahalli, J., & As-Suyuti, J. 2008. *Tafsir Al-Jalalain: Terjemahan Jilid 1*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Mahalli, J., & As-Suyuti, J. 2014. *Tafsir Al-Jalalain: Terjemahan Jilid 2*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Amalia, N. P., Alparisi, B. D., Dimas, R., & Anggraini, D. (2024). Peranan Mikrobiota Usus Manusia Golongan Bakteri Asam Laktat Sebagai Sumber Produksi Potensial dalam Manajemen Terapi Diabetes Melitus Tipe 1 pada Anak. *SCRIPTA SCORE Scientific Medical Journal*, 6(1):67-75.
- Amalia, T. R., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2024). Application of Lactic Acid Bacteria To Improve The Food Safety of Sago Starch. *Menara Perkebunan*, 92(2):90-102.
- Ambarwati, D., & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus subtilis* Terhadap *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(1):25-32.

- Amelia, R., Darsono, P. V., & Saputri, R. (2023). Aktivitas Antibakteri Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Sains Media*, 1(4):195-201.
- Amir, M., Sopiattunnisa, N., & Abna, I. M. (2024). Produksi Asam Laktat Oleh *Lactobacillus acidophilus* dalam Media Fermentasi Kombinasi Limbah Cair Tahu dan Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 15(1):25-36.
- Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., & Mirzah, M. (2019). Optimization of Nutrient Medium For *Pediococcus acidilactici* DS15 To Produce GABA. *Journal of World's Poultry Research*, 9(3):139-146.
- Angkuna, S. A., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2019). Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus casei* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1):1-18.
- Asfiya, N. A., Novalina, D., & Astuti, T. D. (2024). Potensi dan Uji Stabilitas Ekstrak Lawsonia Inermis Sebagai Cat Penutup Pada Gram Staining Dengan Variasi Suhu: Potency and Stability Test of Lawsonia inermis Extract as Counterstain on Gram Staining with Temperature Variation. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 6(2):540-546.
- Asiah, N., Cempaka, L., Ramadhan, K., & Matatula, S. H. 2020. *Prinsip Dasar Penyimpanan Pangan pada Suhu Rendah*. Makassar: Nas Media Pustaka.
- Ayun, Q., Muthiah, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Jus Tempe Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 8(2):171-177.
- Aziza, V., Rini, C. S., Aliviameita, A., & Rohmah, J. (2025). Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Urine Pasien Infeksi Saluran Kemih terhadap Jumlah Bakteri. *Medical Scope Journal*, 7(1):64-73.
- Badan Pusat Statistik. (2023). Rata-Rata Konsumsi per Kapita Seminggu Beberapa Macam Bahan Makanan Penting, 2007-2024. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/1/OTUwIzE=/rata-rata-konsumsi-per-kapita-seminggu-beberapa-macam-bahan-makanan-penting--2007-2023.html>. Diakses 17 Januari 2025.
- Bazaraa, W. A., Abdel-Aziz, M. E., Goda, H. A., & Abdel-Khader, S. N. (2019). Biopreservation of The Fresh Egyptian Nile Perch Fillets Using Combination of Bacteriocins, Sodium Acetate and EDTA. *Bioscience Research*, 16(2):1060-1075.

- Benjamin, E. I., Homenta, H., & Waworuntu, O. A. (2024). Identifikasi Pola Bakteri dan Uji Sensitivitas Antibiotik di Kamar Bedah Mata Rumah Sakit Mata Provinsi Sulawesi Utara. *e-CliniC*, 12(3):324-329.
- Cholifah, N., Hendrarini, L., & Amri, C. (2017). Pemanfaatan Bawang Putih dan Daun Pandan sebagai Pengawet Alami Tahu Ditinjau dari Masa Simpan dan Tingkat Kesukaan. *Sanitasi: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 9(1):10-19.
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., & Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: Safe, Natural Antimicrobials For Food Preservation. *International journal of food microbiology*, 71(1):1-20.
- Damoczi, J., *et al.* (2024). Uncovering the arsenal of class II bacteriocins in salivarius streptococci. *Communications biology*, 7(1):1511.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. II. Novel Procedure Offering Improved Accuracy. *Applied Microbiology*, 22(4):666–670.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*, 22(4):659-665.
- Delfahedah, Y., Syukur, S., & Jamsari, J. (2013). Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi DNA Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Berpotensi sebagai Antimikroba dari Fermentasi Kakao Varietas Hibrid (*Trinitario*). *Jurnal Kimia Unand*, 2(2):92-102.
- Dewi, M. A., Mubarik, N. R., Desniar, D., & Budiarti, S. (2022). Aplikasi Bakteri Asam Laktat dari Inasua sebagai Biopreservatif Ikan Patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1):152-162.
- Dewi, S. R., Handayani, R., Bakar, A., & Ramli, S. (2022). Pemanfaatan Bittern dan Cuka Sebagai Koagulan pada Pembuatan Tahu. *Jurnal Inovasi Ramah Lingkungan (JIRL)*, 3(1):22-27.
- Dhahiyat, Y. 1990. Kandungan Limbah Cair Pabrik Tahu dan Pengolahannya dengan Eceng Gondok (*Eichornia crassipes* (Mart) Solms). *PhD Dissertation*. IPB University.
- Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic Pathogen and Lab Rat. *Microbiology*, 166(1):30-33.
- Dilak, H. I., Fahik, M., & Noach, S. (2022). Uji Efektivitas Antibakteri Daun Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Flobamora Biological Journal*, 1(2):31-38.
- Dutta, S., Park, Y. S., & Park, K. (2016). Proteolytic Activity of Thermophilic *Bacillus licheniformis* Strain SF5-1 For The Efficient Bioconversion of Pork

Waste to Amino Acid Feriliser. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 111:31-36.

- Erawati, R., dkk. (2024). Kajian Keamanan Pangan Industri Tahu Kaliputih Berdasarkan Hygiene dan Sanitasi di Kecamatan Purwokerto Timur. *Journal of Technology and Food Processing (JTFP)*, 4(2):39-49.
- Fachrial, E., Harmileni, H., & Anggraini, S. 2022. *Pengantar Teknik Laboratorium Mikrobiologi dan Pengenalan Bakteri Asam Laktat*. Medan: UNPRI Press.
- Fadila, D. S. R., dkk. (2022). Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservasi pada Daging dan Olahan: Tinjauan Potensi Hingga Industrinya. *Jurnal Pro-Life*, 9(1):300-315.
- Fadila, S. I., Fevria, R., Handayani, D., & Putri, D. H. (2024). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Fermentasi Durian Tembaga (*Durio zibethinus* Murr.) dari Padang Pariaman Sumatera Barat. *Jurnal Serambi Biologi*, 9(1):89-94.
- Falakh, M. F., & Asri, M. T. (2022). Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba Terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(3):514-524.
- Farghaly, R. M., Abdel-Aziz, N. M., & Mohammed, M. H. (2022). The Occurrence and Significance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Some Meat Products in Sohag City. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*, 5(4):53-65.
- Faroliu, G., dkk. (2025). Sosialisasi Inovasi Sediaan Gel dari Teh Fermentasi (Kombucha) Kombinasi Strawberry (*Fragaria vesca*) dan Bunga Asoka (*Ixora coccinea* L.) yang Aktif terhadap Bakteri Kulit serta Literasi Kesehatan Pada Siswa SMA/SMK Plus Terpadu Pekanbaru. *JDISTIRA-Jurnal Pengabdian Inovasi dan Teknologi Kepada Masyarakat*, 5(1):60-67.
- Fatimah, M. P., Megantara, I., & Anggaeni, T. T. K. (2020). Kajian pustaka: Pemanfaatan Bakteriosin dari Produk Fermentasi sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(5):835-848.
- Fauziah, P. N. 2024. *Bakteriologi Medik “Mengenal Dunia Bakteri dan Teknik Pemeriksaan di Laboratorium”*. Makassar: CV. Tohar Media.
- Fauziah, P. N., & Nurhajati, J. (2015). Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain ATCC 700603, CT1538, dan S941. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1):35-41.

- Finanda, A., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Daging Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.), *Protobiont*, 10(2):37-41.
- Felix, F., Chandra, R., & Fachrial, E. (2024). Potensi Probiotik Isolasi DNH 16 dalam Menurunkan Kadar Kolesterol Secara In Vitro. *PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(1):101-112.
- Fionaliasti, F., Sunarti, S., & Nawangsari, D. (2024). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Talas Pratama (*Colocasia Esculenta* (L.) Schott Var. Pratama) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Sosial dan Sains*, 4(8):742-754.
- Firdaus, M. R., Putra, A. E., & Abdiana, A. (2020). Potensi Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 1(3):314-320.
- Firmansyah, D., Herawati, I., & Fauziah, P. N. (2021). Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus* sp. yang Diisolasi dari Feses Bayi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 7(1):16-24.
- Forsythe, S. J. 2007. *The Microbiology of Safe Food 2nd Edition*. Berlin: Blackwell Science, Ltd.
- Gaffar, A., & Suryani, E. M. (2023). Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Bakteriosin pada Produk Susu. *Jurnal Tampiasih*, 1(2):7-14.
- Guhar, D., Khan, F., Qadir, K. A., & Hayat, A. (2024). Characterization and Antimicrobial Spectrum of Bacteriocin-producing *Pediococcus* specie MS3 Isolated from Raw Milk. *Pak-Euro Journal of Medical and Life Sciences*, 7(4):663-678.
- Gunawan, A. T., Widiyanto, T., Bahri, B., & Suryani, L. (2022). Survey terhadap Keberadaan Bakteri *Staphylococcus aureus* di Industri Rumah Tangga Makanan Jajanan Cireng Wilayah Kecamatan Baturraden Kabupaten Banyumas Tahun 2022. *Buletin Kesehatan Lingkungan Masyarakat*, 41(4):166-173.
- Haerun, R., Mallongi, A., & Natsir, M. F. (2018). Efisiensi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Biofilter Sistem Upflow dengan Penambahan Efektif Mikroorganisme 4. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*, 1(2):1-11.
- Hafizah, Q. A., Permatasari, L., & Rachmalia Izzatul Muchlishah, N. (2024). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(2):3833-3834.
- Hafsan, H. (2014). Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat Sebagai Biopreservatif Pangan. *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*, 8(2):175-184.

- Hakim, L. 2022. *Bakteri Patogen Tumbuhan*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Hamdy, A., & Leonardi, A. (2022). Superantigens and SARS-CoV-2. *Pathogens*, 11(4):390.
- Hamida, F. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Bakteriosin Termofilik yang Dihasilkan oleh *Pediococcus pentosaceus* terhadap *Salmonella enteritidis* dan *Enterococcus casseliflavus*. *Sainstech Farma*, 14(1):59-62.
- Hapiwaty, S., dkk. 2025. *Bakteriologi Klinik*. Purbalingga: Eureka Media Aksara.
- Harahap, D. G. S., dkk. 2021. *Dasar-Dasar Mikrobiologi dan Penerapannya*. Bandung: Widina Bhakti Persada Bandung.
- Harahap, S. S., Ridwanto, R., Daulay, A. S., & Rahayu, Y. P. (2024). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat pada Minuman Classic Enzyme Berbagai Macam Buah Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(3):5647-5657.
- Hardayani., Pagala, M. A. Y., & Siadina. (2023). Analisis Pendapatan Ampas Tahu di Desa Sugihwaras Kecamatan Wonomulyo Kabupaten Polewali Mandar (*Studi kasus pada Usaha Tahu Berkah 354*). *Jurnal Agroterpadu*, 2(1):54-63.
- Harianie, L. (2013). Produksi Bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan Aplikasinya sebagai Pengawet Daging. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 4(1):17-25.
- Hasanah, H., & Wahid, R. S. (2025). Identifikasi Jenis Bakteri Asam Laktat dan Uji Kualitas Ecoenzyme dari Sisa Kulit Buah pada Sampah Dapur Rumah Tangga di Kelurahan Tondo. *Jurnal Promotif Preventif*, 8(1):17-24.
- Hasan, A., & Wikandari, P. R. (2018). Penentuan Waktu Produksi Optimum Bakteriosin Asal *Lactobacillus plantarum* B1765 Berdasarkan Aktivitas Penghambatannya Terhadap *Staphylococcus aureus*. *UNESA Journal of Chemistry*, 7(1):15-20.
- Hasbi, N., Rahim, A. R., & Ayunda, R. D. (2024). Isolasi *Staphylococcus aureus* dari Swab Tangan Penjamah Makanan di Kantin Universitas Mataram. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 12(2):68-73.
- Hasyati, R., & Meilani, D. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Gram Positif Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *FARMASAINKES: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 1(2):168-174.

- Helmiyati, A. F., & Nurrahman, N. (2010). Pengaruh Konsentrasi Tawas terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 1(01):1-6.
- Helilusiatiningsih, N., dkk. 2024. *Pengantar Teknologi Pangan*. Padang Pariaman: Lingkar Edukasi Indonesia.
- Hidayat, N., dkk. 2018. *Mikrobiologi Industri Pertanian*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (9th ed)*. Lippincott Williams and Wilkins.
- Husain, R., Kandou, F. E. F., & Pelealu, J. J. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*, 11(1):1245-1254.
- Husna, A. T., Suharti, N., Akhyar, G., Putra, A. E., Muhammad, S., & Ilmiawati, C. (2024). Uji Daya Hambat Filtrat *Lactobacillus gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Genitalia Wanita. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 5(4):320-328.
- Hutabarat, M. C., Anggraeni, I. F., Raditya, D., Nurmawati, A., & Saputro, E. A. (2022). Identifikasi Potensi Limbah Cair Tahu Menjadi Bahan Bakar Alternatif Biogas di Desa Bocek, Kecamatan Karang Ploso, Kabupaten Malang. *Jurnal Warta Desa (JWD)*, 4(2):104-111.
- Imam, S., Mahfudz, L. D., & Suthama, N. (2018). Perkembangan Mikrobial Usus Ayam Broiler yang Diberi Pakan Stepdown Protein dengan Penambahan Asam Sitrat sebagai Acidifier. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 16(2):191-200.
- Indrawan, J. S., Kusumadewi, S., & Prestiyanti, N. M. I. (2024). Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *Bali Dental Journal*, 8(2):80-87.
- Inglin, R. C., Meile, L., & Stevens, M. J. (2018). Clustering of Pan-and Core-genome of *Lactobacillus* Provides Novel Evolutionary Insights For Differentiation. *BMC Genomics*, 19:1-15.
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2):121-127.

- Irma, A., Lukman, J. B., & Nurfadillah, A. (2022). Karakterisasi Mikrobiota Mulut Penghasil Senyawa Antimikroba: Laboratory Research. *Journal of Vocational Health Science*, 1(1):34-39.
- Ismawati, S., Saryono, S., Mukhyarjon, M., & Wardi, N. K. 2024. *Potensi Inulin sebagai Prebiotik*. Sleman: Deepublish Digital (Grup Penerbitan CV Budi Utama).
- Jannah, S. N., Pujiyanto, S., Rosiana, E., & Purwantisari, S. (2021). Formulation and Optimization of Alternative Culture Media for Probiotic Bacteria Growth Using Tofu Liquid Waste. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1943, No. 1, p. 012070). IOP Publising.
- Jonathan, K. (2025). Evaluasi Efektivitas Efektif Mikroorganisme (EM) Berbasis Buah-Buahan dan Sayur-Sayuran dalam Menurunkan Parameter Pencemar Limbah Cair Tahu. *Metta: Jurnal Ilmu Multidisiplin*, 5(2): 69-83.
- Juariah, S., & Sari, W. P. (2018). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, 6(1):24-29.
- Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*, 1(1):18-23.
- Karyawati, A .T., Mauboy, R. S., Ruma, M. T. L. (2024). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Tahu di Pabrik Tahu Bintang Oesapa Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang. *Jurnal Biotropikal Sains*, 21(3):74-82.
- Kawuwung, P. B., Riogilang, H., & Pratasis, P. A. (2024). Pemanfaatan Limbah Industri Tahu Sebagai Pupuk Organik Cair di Kelurahan Batu Kota Bawah Kecamatan Malalayang. *TEKNO*, 22(89):1569-1582.
- Kembuan, P. P., Mokosuli, Y. S., Lawalata, H. J., Moko, E., & Roring, V. I. (2024). Suksesi Bakteri Asam Laktat pada Manisan Buah Pakoba (*Syzygium luzonense*). *SOSCIED*, 7(2):744-759.
- Khairunnisa, M., Helmi, T. Z., Darmawi., Dewi, M., & Hamzah, A. (2018). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Ambing Kambing Peranakan Etawa (PE). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(4):538-545.
- Khairunnissa, R., Nissa, H., Banun, E. M., Apriani, I., & Jati, D. R. (2020). Analisis Teknologi Bersih dan Minimasi Limbah pada Industri Tahu Rumahan Kota Pontianak (Analysis of Clean Technology and Minimization of Waste in the Home-based Tofu Industry on Jl. Parit Pangeran, Pontianak City, West Kalimantan). *Jurnal Teknologi Lingkungan Lahan Basah*, 8(2):068-075.
- Khasanah, H. R., & Nugraheni, D. E. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bondu* (L.) Roxb) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Avicenna*, 16(1):8-15.

- Khuluq, M. K., & Asmuni, A. (2024). Hifz Al-Bi'ah as Part of Maqashid Al-Shari'ah and Its Relevance in The Context of Global Climate Change. *Indonesian Journal of Interdisciplinary Islamic Studies (IJIS)*, 7(2):161-178.
- Kooriparambil, J., Arumugam, V. C., Veetil, V. N., & Alikadavath, S. (2026). Partial Purification and Characterizations of Bacteriocin from *Lactobacillus casei* Isolated from Goat Milk: A Novel Antimicrobial Agent. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 17(2):191-198.
- Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N., & Patel, S. (2019). Bacteriocins: Classification, Synthesis, Mechanism of Action and Resistance Development in Food Spoilage Causing Bacteria. *Microbial pathogenesis*, 128:171-177.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: "Lemea". *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1):25-32.
- Laila, W., Indrayati, S., Zaunit, M. M., & Harleni, H. (2024). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Biji Kakao Sisa Pencernaan Musang Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 11(2):120-127.
- Lena, M., Badi'ah, B. A., Wijaya, A. I., & Aditama, R. S. (2025). Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Limbah Kangkung (*Ipomoea aquatica*) sebagai Penghasil Bakteriosin Alami. *Jurnal Peternakan*, 22(2):148-156.
- Lestari, S. D., Sadiq, A. L. O., Safitri, W. A., Dewi, S. S., & Prastiyanto, M. E. (2019). The Antibacterial Activities of Bacteriocin *Pediococcus acidilactici* of Breast Milk Isolate To Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1374, No. 1, p. 012021). IOP Publishing.
- Lisnawati, L., Maulina, M., Rizhal, I. E. N., Herlina, H., & Nafis, A. (2025). Menimbang Skala Prioritas dalam Kaidah Fikih: Antara Darurat dan Kebutuhan. *Hidayah: Cendekia Pendidikan Islam Dan Hukum Syariah*, 2(2):243-255.
- Lolo, E. U., Gunawan, R. I., Krismani, A. Y., & Pambudi, Y. S. (2021). Penilaian Dampak Lingkungan Industri Tahu Menggunakan *Life Cycle Assessment* (Studi Kasus: Pabrik Tahu Sari Murni Kampung Krajan, Surakarta). *Jurnal Serambi Engineering*, 6(4):2337-2347.
- Magréault, S., Jauréguy, F., Carbonnelle, E., & Zahar, J. R. (2022). When and How to Use MIC in Clinical Practice?. *Antibiotics*, 11(12):1748.

- Magvirah, T., Marwati, M., & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2):41-50.
- Manalu, A. I., & Pardosi, L. (2024). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Air Cucian Beras Merah dan Uji Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*. *Biogenic: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2):17-24.
- Manurung, D. O., Prestiyanti, N. M. I., Kusumadewi, S., & Anggayanti, N. A. (2025). Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Etanol Kulit Pisang Muli (*Musa acuminata* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Bali Dental Journal*, 9(1):52-56.
- Marhayuni, Y., & Faizi, M. N. (2022). Pembuatan IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) Bersistem ABR (*Aerobic Baffled Reactor*) untuk Mengatasi Limbah Domestik sebagai Pengamalan QS Al A'Raf Ayat 56. *Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam dan Sains*, 4(1):34-38.
- Marlina, M., Riono, T., & Fitria, H. (2023). Pengaruh Pemberian Limbah Cair Tahu Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L) pada Media Gambut. *Selodang Mayang: Jurnal Ilmiah Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Indragiri Hilir*, 9(2):160-170.
- Maulana, A. P., Alus, Y. J., Khabisa, A. A. F., & Rukmelia, R. (2024). Pengaruh Penambahan Variasi Daging Buah Pisang pada Pembuatan Tahu. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 6(2):52-58.
- Mawarni, A., Syuhada', S., & Ayu, I. (2025). Peran Produk Halal dan Ramah Lingkungan dalam Mewujudkan *Green Economy* di Industri Syariah FAS FOOD Desa Duriwetan. *Jurnal Kajian Ekonomi & Bisnis Islam*, 6(6):2070-2089.
- Medaando, M., Rahmawati, R., & Turnip, M. (2024). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemiripan Fenotipik dari Kulit Nanas Varietas Queen di Kalimantan Barat yang Difermentasi secara Alami. *Life Science*, 13(1):22-34.
- Meiyasa, F. (2020). Potensi *Lactobacillus* dalam Mencegah *Listeria monocytogenes*. *Media Gizi Pangan*, 27(1):38-52.
- Meiyasa, F., & Nurjanah, N. 2021. *Mikrobiologi Hasil Perikanan*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Mengko, K. R., Wewengkang, D. S., & Rumondor, E. M. (2022). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Spons *Theonella swinhoei* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 11(1):1231-1236.

- Meysari, D., Helmi, H., & Lingga, R. (2025). Bacteriocin Activity of Lactic Acid Bacteria from Giant Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 18(1):168-181.
- Moon, Y., Heo, S., Park, H. J., Park, H. W., & Jeong, D. W. (2023). Novel Strain *Leuconostoc Lactis* DMLL10 from Traditional Korean Fermented Kimchi As a Starter Candidate For Fermented Foods. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(12):1625.
- Mu, Y., Zhang, C., Jin, C. Z., Li, T., Jin, F. J., Lee, H. G., & Jin, L. (2024). Antibacterial Activity and Action Mode of Crude Bacteriocin C2-1 from *Ligilactobacillus salivarius* C2-1 Against *Listeria monocytogenes* CICC 21633. *LWT*, 193, 115765.
- Mulqie, L., Suwendar, M. F. R., Mardliyani, D., Yumniati, I., Widiyari, A. N. B., & Nurrosyidah, Z. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Air [*Eugenia aqueum* (Burm. F) Alston] dengan Mikrodilusi Agar. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(1):1-8.
- Munira, M., & Nasir, M. (2023). Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dari Geothermal Ie Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*, 4(2):179-185.
- Murdianto, D., Kismanti, S. T., & Santoso, D. (2023). Model Petri Net Produksi Tahu pada Industri Skala Rumah Tangga. *Contemporary Mathematics and Applications (ConMathA)*, 5(2):54-63.
- Nadzifah, M. (2022). Produksi dan Karakterisasi Bakteriosin *Lactobacillus plantarum* fncc 0026 yang Diisolasi dari Asinan Sayur. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Najiya, U. L., Rohama., R., & Hidayat, A. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Dilusi. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*, 4(2):43-53.
- Nasri, S. H. U., Widyastuti, S., & Ariyana, M. D. (2023). Kajian Mutu Kimia dan Daya Hambat Madu Lebah Trigona (*Tetragonula clypearis*) dari Peternakan di Kabupaten Lombok Timur terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. *Pro Food (Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan)*, 9(1):12-23.
- Ningsih, N. P., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus brevis* dari Es Pisang Ijo. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(2):233-242.

- Novanti, R., & Zulaika, E. (2019). Pola Pertumbuhan Bakteri Ureolitik pada Medium *Calcium Carbonat Precipitation* (CCP). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2):34-35.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41-46.
- Nurhayati, N., dkk. 2024. *Pengantar Teknologi Pangan*. Padang: Azzia Karya Bersama.
- Nurmailah, F., Muawanah, I. A. U., & Widyantara, A. B. (2024). Efektivitas Buah Delima Sebagai Alternatif Safranin pada Pewarnaan Gram Negatif *Salmonella* sp. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(4):11501-11507.
- Nurraifah, Y., Arief, I. I., & Ulupi, N. (2021). Penggunaan Bakteriosin yang Diproduksi Oleh *Lactobacillus plantarum* Sebagai Pengawet Alami Untuk Daging Ayam yang Disimpan di Suhu Ruang. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 9(1):7-14.
- Nurul, A., dkk. (2023). Tinjauan Artikel: Uji Mikrobiologi. *Journal of Pharmacy*, 12(2):31-36.
- Permatasari, I., Turnip, M., & Kurniatuhadi, R. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Tempoyak Durian Pekawai (*Durio kutejensis* (Hassk.) Becc.). *Agroprimatech*, 6(1):7-16.
- Pertiwi, P. W. D. 2022. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil serta Uji Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Poeloengan, M., & Andriani, A. (2013). Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Jurnal Veteriner*, 14(2):145-152.
- Pratama, A., Mustaruddin, M., & Purwangka, F. (2024). Keberadaan Bakteri Kontaminan pada Air Pencucian Produk Perikanan di Pelabuhan Perikanan Selili Kota Samarinda. *ALBACORE Jurnal Penelitian Perikanan Laut*, 8(1):35-44.
- Pratiwi, S. U. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prihanto, A. A., Nursyam, H., & Kurniawan, A. 2021. *Probiotik Perikanan: Konsep, Metode, dan Aplikasi*. Malang: UB Press.
- Prissilia, N., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri

- Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1):1-22.
- Purba, P. Y., Yoswaty, D., & Nursyirwani, N. (2022). Antibacterial Activity of *Avicennia alba* Leaves and Stem Extracts Against Pathogenic Bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas salmonicida*, *Staphylococcus aureus*). *Journal of Coastal and Ocean Sciences*, 3(2):144-151.
- Putra, A., Satriananda, S., Suryani, S., Amalia, Z., & Syafruddin, S. 2024. *Teknologi Bioindustri dan Penerapannya*. Yogyakarta: Ebukune Litera Media.
- Putri, A. A., Rustama, M. M., & Putranto, W. S. (2023). Skrining Bakteri Asam Laktat dan Khamir Potensial Proteolitik Ekstraseluler dan Milk Clotting Activity dari Ekstrak dan Fresh Cheese Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 4(2):187-212.
- Putri, C. M., Rustama, M. M., & Putranto, W. S. (2024). Skrining Bakteri Asam Laktat dan Khamir Potensial Proteolitik Ekstraseluler dan Milk Clotting Activity Dari Ekstrak dan Fresh Cheese Stroberi (*Fragaria x Ananassa* Duch.). *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 5(1):61-82.
- Putri, G. E., Fitri, W. E., Angelia, I., Dasril, O., & Edison, E. (2020). PKM Pembuatan Sistem Pengolahan Air Limbah Sederhana dan Pengelolaan Limbah Cair Tahu dengan Metode Fotodegradasi. *Jurnal Abdimas Saintika*, 2(1):24-32.
- Putri, I., Jannah, S. N., & Purwantisari, S. (2020). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from *Apis mellifera* and Their Potential as Antibacterial Using In vitro Test Against Growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 3(1):26-34.
- Putri, P. K. P. D., & Yustiantara, I. P. S. (2023). Review: Efektivitas Sterilisasi dengan Ozon (O₃) pada Peralatan Laboratorium sebagai Upaya Penjaminan Kualitas dan Mutu. *Journal Scientific of Mandalika (JSM)*, 4(5):62-70.
- Rahayu, K. M., & Latifah, S. (2026). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya (JB&P)*, 13(1):106-116.
- Rahayu, Y. P., Nasution, H. M., & Supiyani, S. (2024). Prevalensi dan Identifikasi Cemaran Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* pada Ayam Krispy Daerah Amplas Kota Medan Menggunakan Rabbit Coagulase Plasma With EDTA. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 7(3):340-347.
- Rahayuningsih, S. R., Patimah, S. S., Mayanti, T., & Rustama, M. M. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-heksana Daun Mangrove (*Rhizospora stylosa* Griff) Terhadap Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Marine Research*, 12(1):1-6.

- Rahmadi, A. 2019. *Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Ramadani, M., Gunawan, M., Fitriani, E., & Kusumastuti, M. Y. (2024). Formulasi Sabun Cair Antiseptik Sari Air Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* Var Sepientum L.) dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 8(1):20-37.
- Ramadhani, D., Patang, P., & Putra, R. P. (2024). Seleksi Bakteri Asam Laktat Pada Fermentasi Spontan Biji Kopi Robusta dan Karakterisasi Enzim. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 10(2):261-270.
- Ramdani, S. S., Rahman, F. A., & Rizki, A. S. (2025). Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Agroinovasi: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 2(2):52-59.
- Raningsih, M., Wulansari, N. T., & Suarnadi, N. K. (2021). Efektivitas Bakteriosin *Streptococcus thermophilus* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(2):83-89.
- Rastina, R., Hayati SN, K., Ferasyi, T. R., Ismail, I., & Azhari, A. (2024). Pengaruh Lama Penyimpanan Dadih Gayo Pada Suhu Refrigerator Terhadap Jumlah Total Bakteri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET)*, 9(1):25-30
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. (2021). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Blonde Virgin Coconut Oil terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1):56-67.
- Razak, A. R., Patong, A. R., Harlim, T., Djide, M. N., Haslia, H., & Mahdalia, M. (2009). Produksi Senyawa Bakteriosin Secara Fermentasi Menggunakan Isolat BAL *Enterococcus faecium* DU55 dari Dangke. *Jurnal Akta Kimia Indonseia (Indonesia Chimica Acta)*, 2(2):1-10.
- Ríos Colombo, N. S., Perez-Ibarreche, M., Draper, L. A., O'Connor, P. M., Field, D., Ross, R. P., & Hill, C. (2023). Impact of Bacteriocin-producing Strains on Bacterial Community Composition in a Simplified Human Intestinal Microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 14:1290697.
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitrianingsih, F., & Rahman, H. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jambi Medical Journal: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 10(3):442–457.
- Rojali, R., Lisa D., Restiati, I., & Suparmin. (2023). Mengolah Limbah Cair Tahu Menjadi Biogas Sebagai Bahan Bakar Alternatif Proses Produksi Tahu dan Peningkatan Kualitas Usaha di Kelurahan Pela Mampang Jakarta Selatan. *Jurnal Manajemen, Ekonomi, Hukum, Kewirausahaan, Kesehatan, Pendidikan dan Informatika (MANEKIN)*, 2(1):57-62.

- Ruppitsch, W., *et al.* (2021). Genetic Diversity of *Leuconostoc mesenteroides* Isolates from Traditional Montenegrin Brine Cheese. *Microorganisms*, 9(8):1612.
- Safari, D. A., & Rini, S. (2025). Uji Efektivitas Antibakteri Larutan Lo'i Keta terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(3):2148-2161.
- Safitri, D., Fitriah, F., Nashihah, S., Andika, A., & Fajeriyati, N. (2025). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Pekasam Ikan Haruan: Efek Fermentasi dan Penggorengan. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(2):782-791.
- Sahib, M., & Ifna, N. (2024). Urgensi Penerapan Prinsip Halal dan Thayyib dalam Kegiatan Konsumsi. *POINT: Jurnal Ekonomi Dan Manajemen*, 6(1):53-64.
- Salnus, S. (2024). Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAINTEK Patompo*, 2(1):36-41.
- Salsabila, S., & Faisal, F. (2024). Uji Potensi Senyawa Antimikroba secara Difusi Sumuran dan Difusi Paper Disk pada Bakteri *Eschericia coli*. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknikan dan Informatika*, 2(1):23-29.
- Samsudin, W., Selomo, M., & Natsir, M. F. (2018). Pengolahan Limbah Cair Industri Menjadi Pupuk Organik Cair dengan Penambahan Mikroorganisme Efektif-4 (Em-4). *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*, 1(2):1-14.
- Santosa, E. A., & Retnaningrum, E. (2020). Karakterisasi Fenotipik dan Aktivitas Antimikrobia Bakteri Asam Laktat dari Limbah Produksi Tempe. *Jurnal Sains Dasar*, 9(1):1-10.
- Sari, L. B., & Mustakim, A. (2025). Isolasi dan Indentifikasi Bakteri Asam Laktat dari Tempoyak sebagai Produk Fermentasi Tradisional. *Menulis: Jurnal Penelitian Nusantara*, 1(8):509-513.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik Terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2):105-114.
- Sari, R., Deslianri, L., & Apridamayanti, P. (2016). Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2):88-96.
- Sari, S. M., Ningsih, A. W., Anwari, F., & Nurrosyidah, I. H. (2021). Modifikasi Media Pertumbuhan *Lactobacillus casei* Strain Shirota dengan Susu Skim

yang Diperkaya Air Kelapa Hijau dan Tepung Jagung. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 8(1):14-19.

- Sari, S. R., Guttifera, G., Arafah, E., Lestari, S., Putri, R. E., Saadah, R., & Sumsanto, M. (2024). Analisis Antibakteri Perusak Makanan Kitosan Kombinasi Gambir dan Glukosa sebagai Pengawet Alami Fungsional Untuk Makanan. *Jurnal Perikanan Unram*, 14(1):248-254.
- Sari, Y. E. S., dkk. 2025. *Bakteriologi 1 Teknologi Laboratorium Medis*. Cilacap: PT. Media Pustaka Indo.
- Sarmira, M., Purwanti, S., & Yuliati, F. N. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Oregano Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* Sebagai Alternatif *Feed Additive* Unggas. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 21(1):40-49.
- Savana, A. G., Febriyanti, D. R., Azizah, N. W., Fitriansyah, F., Sofiyah, N., & Faisal, F. (2024). Uji Potensi Senyawa Antimikroba pada Tanaman secara Difusi Sumuran dan Difusi Paper Disk. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknikan dan Informatika*, 2(1):15-22.
- Scania, A. E., & Ningsih, I. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: Permasalahan, Resistensi Antibiotik dan Pemeriksaan Mikrobiologi. *Pratista Patologi*, 8(3):139-147.
- Shavira, A., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Aktivitas Antibakteri dari Bakteriosin *Lactobacillus* Spp. terhadap Bakteri Resistan Antibacterial Activity of *Lactobacillus* Spp. Bacteriocin Against Resistant Bacteria. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(1):60-72.
- Seftiono, H. (2016). Perubahan Sifat Fisiko Kimia Protein Selama Proses Pembuatan Tahu Sebagai Rujukan Bagi Posdaya. *Jurnal Kesejahteraan Sosial*, 3(1):85-92.
- Sembor, S., Lontaan, N., Kowel, Y., & Rumerung, S. N. (2024). Pengaruh Penggunaan Tepung Biji Durian (*Durio zibethinus* Murr) Terhadap Cemaran Mikroba, dan Daya Hambat *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. Salami. *JURNAL BIOS LOGOS*, 14(3):74-86.
- Setiarto, R. H. B. 2020. *Teknologi Fermentasi Pangan Tradisional dan Produk Olahannya*. Bogor: Guepedia.
- Setiarto, R. H. B. 2021. *Bioteknologi Bakteri Asam Laktat untuk Pengembangan Pangan Fungsional*. Bogor: Guepedia.
- Setyawan, T., Lolo, E., & Sudaryantiningsih, C. (2025). Efektivitas Variasi Dosis Koagulan PAC Pada Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Untuk Penurunan Parameter BOD dan TSS (Studi Kasus: Industri Tahu Dele

- Emas, Kampung Krajan, Kelurahan Mojosongo, Kota Surakarta). *Jurnal Solo Teknologi*, 1(1):1-9.
- Siagian, L. S., Manalu, K., & Nasution, R. A. (2024). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Fermentasi Limbah Organik Kulit Buah (*Eco-enzyme*). *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, 7(1):322-334.
- Sidabutar, A. R., Feliatra, F., & Dahliaty, A. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteriosin dari Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricus). *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau, Pekanbaru*: 1-13.
- Sim, M., Nicoline, F. F., Florenly, F., & Nauli, H. T. (2021). Analisa Efektivitas Anti Bakteri dari Ekstrak *Virgin Coconut Oil* Metode Fermentasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilm. Mhs. Kesehat. Masyarakat*, 6(2):305-312.
- Sinarsih, N. K., Rita, W. S., & Puspawati, N. M. (2021). Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Applied Chemistry Research*, 3(1):1-5.
- Sirajuddin, N. T., dkk. 2025. *Mikrobiologi Dasar: Struktur, Fungsi, dan Peran Mikroorganisme*. Padang: Azzia Karya Bersama.
- Siswara, H. N., Arief, I. I., & Wulandari, Z. (2019). Plantarisin Asal *Lactobacillus plantarum* IIA-1A5 sebagai Pengawet Alami Daging Ayam Bagian Paha pada Suhu Refrigerator. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 7(3):123-130.
- Sonia, N. M. O., & Kusnadi, J. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1):11-19.
- Suardana, I. W., Sukoco, H., & Antara, N. S. (2018). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 18A Secara Fenotipik. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1):1-9.
- Suarti, B., Miranda, I. D., & Lubis, Z. (2023). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-cristi* L.) dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Tahu. *Warta Dharmawangsa*, 17(1):276-284.
- Suderajad, P., Dahlan, A., Wijayanti, W., Ramadhan, M. R., & Nur, A. M. (2025). Enumerasi, Isolasi, dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Proses Fermentasi Makanan Tradisional Kabuto. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 10(5):8783-8794.

- Sulmiyati, S., Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Maruddin, F. (2018). The Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Indonesian Commercial Kefir Grain. *Malaysian Journal of Microbiology*, 14(7):632-639.
- Suphandi, M., Sugata, M., & Jan, T. T. (2023). Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Susu Sapi di Indonesia. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 8(2):1-9.
- Surapati, Y. S. P., & Sari, P. M. (2025). Efek Antibakteri Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Lactobacillus bulgaricus* Secara In Vitro. *Ilmu Gizi Indonesia*, 9(1):93-102.
- Surono, I. S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya.
- Suryani, S. 2021. *VCO (Virgin Coconut Oil) Dapat Membantu Penyembuhan Covid-19 Ditinjau dari Perspektif Biokimia*. Surabaya: Unitomo Press.
- Susilowati, A. Y., Jannah, S. N., Kusumaningrum, H. P., & Sulistiani, S. S. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing Sebagai Bakteri Antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* Penyebab *Foodborne Disease*. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2):33-41.
- Syafira, I. I. (2024). Analisis Potensi Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. *Disertasi*. Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis. Poltekkes Kemenkes Makassar.
- Syahputri, O. L. L., Elviantari, A., & Fardiansyah, A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri dari Usus Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Perikanan Terapan*, 1(1):16-23.
- Syarifah, R., Fakhrurrazi, F., Harris, A., Sutriana, A., Erina, E., & Winaruddin, W. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Biji Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(3):361-372.
- Taib, E. N., Maya, H., Shabirah, R., & Siregar, F. R. (2023). Isolasi dan Identifikasi Mikroba pada Tanah Bekas Pertumbuhan Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 15(2):96-104.
- Tarigan, I. L., & Muadifah, A. 2020. *Senyawa Antibakteri Bahan Alam*. Malang: Media Nusa Creative (MNC Publishing).
- Teul, S. M., Rahmawati, R., & Ifadatin, S. (2023). Identification of Lactic Acid Bacteria from Fermented Kimchi Sawi Ansabi (*Brassica juncea* L.) using Phenotypic Similarities. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4):50-60.

- Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T. (2005). Effect of Growth Medium on Bacteriocin Production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a Strain Isolated from Boza. *Food Technology and Biotechnology*, 43(2):165-173.
- Todorov, S. D., & Dicks, L. M. (2004). Influence of Growth Conditions on The Production of A Bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ST34BR, A Strain Isolated from Barley Beer. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 44(4):305-316.
- Todorov, S. D., Dioso, C. M., Liong, M. T., Nero, L. A., Khosravi-Darani, K., & Ivanova, I. V. (2023). Beneficial Features of *Pediococcus*: from Starter Cultures and Inhibitory Activities to Probiotic Benefits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1):4.
- Tortora, G.J., B.R. Funke, dan C.L. Case. 2010. *Microbiology an Introduction*. San Fransisco: Addison Wesley Longman Inc.
- Tulasi, M. I., Foeh, N. D. F. K., & Detha, A. I. R. (2024). Studi Literatur Senyawa Metabolit Bakteri Asam Laktat dan Kegunaannya dalam Mengoptimalkan Kesehatan Hewan. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 7(2):262-274.
- Utami, P. R. 2023. *Pengantar Bakteriologi Pada Penyakit Infeksi untuk ATLM*. Sleman: Deepublish.
- Utami, U., Kusmiyati, N., Harianie, L., & Fitriasari, P. D. 2021. *Imunomodulator Probiotik Bakteri Asam Laktat*. Malang: Inteligencia Media.
- Velasco, V., *et al.* (2018). Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains in The Pork Chain Supply in Chile. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(5):262-268.
- Wahyudi, M. D. (2022). Rancang Bangun Mesin Penyaring dan Pengepresan Bubur Kedelai menjadi Tahu dengan Kapasitas Minimal 10 Kg per Proses. *Mekanik: Jurnal Ilmiah Bidang Teknik Mesin*, 15(2):46-52.
- Wardani, R. Y., & Agustini, R. (2017). Pengaruh Konsentrasi Yeast Hydrolysate Enzimatic (YHE) Sebagai Suplemen Media Kultur Untuk Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Chemistry*, 6(1):25-30.
- Wardi, E. S., Nova, B., Sartika, D., & Rozi, F. (2025). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Tapai Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa* L Var. *Glutinosa*) dan Uji Aktivitas Enzim Protease. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 12(1):61-70.
- Wattimury, A., Samodra, E. A. M., Ferdian, E., Budiarmo, T. Y., & Amarantini, C. (2024). Identifikasi Cemaran Bakteri *Staphylococcus* sp. dan Jamur *Aspergillus* sp. pada Produk Roti untuk Meningkatkan Keamanan Pangan. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 3(8):2474-2482.

- Wei, Z., Fan, P., Li, B., Madjirebaye, P., Peng, Z., & Xiong, T. (2025). Optimization of Culture Medium Ingredients and Culture Conditions for Bacteriocin Production in *Lactococcus lactis* NCU036019. *Biotechnology and Applied Biochemistry*:1-14.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmakon*, 10(1):706-712.
- Widodo, W. 2019. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal: Isolasi Sampai Aplikasi Sebagai Probiotik dan Starter Fermentasi Susu*. Sleman: Gajah Mada University Press.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and Broth Dilution Methods to Determine The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nature protocols*, 3(2):163-175.
- Windy, W., & Dewi, L. (2023). Detection of Lactic Acid Bacteria (LAB) In Soaking Water of Arabica Coffee Cherries on Mount Sindoro. *Journal of World Science*, 2(9):1375-1386.
- Wulan, W., Gustiana, E., & Apriani, I. (2024). Teknologi Bersih dan Minimasi Limbah pada Industri Tahu. *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Terpadu*, 8(12):10-19.
- Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., & Walker, B. (2018). Influence of Culture Media, pH and Temperature On Growth and Bacteriocin Production of Bacteriocinogenic Lactic Acid Bacteria. *AMB express*, 8:1-14.
- Yang, S. C., Lin, C. H., Sung, C. T., & Fang, J. Y. (2014). Antibacterial Activities of Bacteriocins: Application in Foods and Pharmaceuticals. *Frontiers in microbiology*, 5:241.
- Yanto, R. B., Satriawan, N. E., & Suryani, A. (2021). Identifikasi dan Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik (*Chloramphenicol* dan *Cefotaxime Sodium*) dari Pus Infeksi Piogenik di Puskesmas Proppo. *Jurnal Riset Kimia*, 6(2):154-162.
- Yasir, K., Sukainah, A., & Mustarin, A. (2024). Isolasi dan Identifikasi Mikroba Amilolitik Selama Fermentasi Spontan Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*). *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 10(2):239-248.
- Yevani, F., Moi, M. Y., & Ernaningsih, D. (2023). Daya Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kligong (*Crassocephalum crepidiodes*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Syntax Admiration*, 4(1):1-16.

- Yuka, R. A., Setyawan, A., & Supono, S. (2021). Identifikasi Bakteri Bioremediasi Pendegradasi Total Ammonia Nitrogen (TAN). *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 14(1):20-29.
- Zahidah, D., & Shovitri, M. (2013). Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1):E12-E15.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Konsentrasi Larutan Bakteriosin

$$\text{Konsentrasi } 0\% = \frac{\text{volume ekstrak (ml)}}{\text{volume total larutan (ml)}} = \frac{0 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 0\%$$

$$\text{Konsentrasi } 25\% = \frac{\text{volume ekstrak (ml)}}{\text{volume total larutan (ml)}} = \frac{2,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 25\%$$

$$\text{Konsentrasi } 50\% = \frac{\text{volume ekstrak (ml)}}{\text{volume total larutan (ml)}} = \frac{5,0 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 50\%$$

$$\text{Konsentrasi } 75\% = \frac{\text{volume ekstrak (ml)}}{\text{volume total larutan (ml)}} = \frac{7,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 75\%$$

$$\text{Konsentrasi } 100\% = \frac{\text{volume ekstrak (ml)}}{\text{volume total larutan (ml)}} = \frac{10 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 100\%$$

Lampiran 2. Hasil Uji Antibakteri bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

• **Isolat LT1S**

LT1S	0%	25%	50%	75%	100%	K +
1	0	4,7	3,6	4,7	3,6	28,2
2	0	2,3	3,8	3,6	4,7	31,8
3	0	5,0	4,3	3,7	5,5	26,7
4	0	3,2	3,4	3,6	4,0	32,4
Rata-Rata	0	3,8	3,8	3,9	4,5	29,8
Ket.	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Sangat kuat

• **Isolat LT1P**

LT1P	0%	25%	50%	75%	100%	K +
1	0	3,5	4,4	4,4	8,1	29,7
2	0	4,1	4,2	3,4	5,6	28,4
3	0	3,7	5,0	6,9	12,3	27,4
4	0	4,7	5,3	7,9	3,4	27,4
Rata-Rata	0	4,0	4,7	5,7	7,4	28,2
Ket.	Lemah	Lemah	Lemah	Sedang	Sedang	Sangat kuat

Lampiran 3. Hasil Uji KHM Bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Isolat LT1S			Isolat LT1P		
	1	2	3	1	2	3
0%	+	+	+	+	+	+
25%	+	+	+	+	+	+
50%	+	+	+	+	+	+
75%	+	+	+	+	+	+
100%	+	+	+	+	+	+
K. Media	—	—	—	—	—	—
K. Bakteri	+	+	+	+	+	+
K. Akuades	+	+	+	+	+	+
K. Antibiotik	+	+	+	—	—	—

Lampiran 4. Analisis Data Uji Antibakteri Bakteriosin Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus*

1. Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Tests of Normality							
Konsentrasi_bakteriosin		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona_hambat	0%	.	4	.	.	4	.
	25%	.260	4	.	.912	4	.492
	50%	.224	4	.	.949	4	.712
	75%	.396	4	.	.694	4	.010
	100%	.205	4	.	.968	4	.828
	Kontrol +	.268	4	.	.890	4	.381

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Kruskal-Wallis

Ranks			
Konsentrasi_bakteriosin		N	Mean Rank
Zona_hambat	0%	4	2.50
	25%	4	11.75
	50%	4	11.13
	75%	4	12.00
	100%	4	15.13
	Kontrol +	4	22.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

Zona_hambat	
Kruskal-Wallis H	16.944
df	5
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi_bakteriosin

3. Uji Lanjut Signifikasi Kruskal-Wallis

Pairwise Comparisons of Konsentrasi_bakteriosin

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
0%-50%	-8.625	4.974	-1.734	.083	1.000
0%-25%	-9.250	4.974	-1.860	.063	.944
0%-75%	-9.500	4.974	-1.910	.056	.842
0%-100%	-12.625	4.974	-2.538	.011	.167
0%-Kontrol +	-20.000	4.974	-4.021	.000	.001
50%-25%	.625	4.974	.126	.900	1.000
50%-75%	-.875	4.974	-.176	.860	1.000
50%-100%	-4.000	4.974	-.804	.421	1.000
50%-Kontrol +	-11.375	4.974	-2.287	.022	.333
25%-75%	-.250	4.974	-.050	.960	1.000
25%-100%	-3.375	4.974	-.679	.497	1.000
25%-Kontrol +	-10.750	4.974	-2.161	.031	.460
75%-100%	-3.125	4.974	-.628	.530	1.000
75%-Kontrol +	-10.500	4.974	-2.111	.035	.522
100%-Kontrol +	-7.375	4.974	-1.483	.138	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .050.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Lampiran 5. Analisis Data Uji Antibakteri Bakteriosin Isolat Limbah Cair Tahu terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

1. Uji Normalitas Shapiro-Wilk

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi_bakteriosin	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona_hambat	0%	.	4	.	.	4	.
	25%	.215	4	.	.946	4	.689
	50%	.237	4	.	.930	4	.594
	75%	.224	4	.	.929	4	.589
	100%	.177	4	.	.976	4	.877
	Kontrol +	.275	4	.	.856	4	.245

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Kruskal-Wallis

		Ranks	
	Konsentrasi_bakteriosin	N	Mean Rank
Zona_hambat	0%	4	2.50
	25%	4	9.25
	50%	4	12.63
	75%	4	13.00
	100%	4	15.13
	Kontrol +	4	22.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Zona_hambat
Kruskal-Wallis H	17.517
df	5
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi_bakteriosin

3. Uji Lanjut Signifikasi Kruskal-Wallis

Pairwise Comparisons of Konsentrasi_bakteriosin

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
0%-25%	-6.750	4.986	-1.354	.176	1.000
0%-50%	-10.125	4.986	-2.031	.042	.634
0%-75%	-10.500	4.986	-2.106	.035	.528
0%-100%	-12.625	4.986	-2.532	.011	.170
0%-Kontrol +	-20.000	4.986	-4.011	<.001	.001
25%-50%	-3.375	4.986	-.677	.498	1.000
25%-75%	-3.750	4.986	-.752	.452	1.000
25%-100%	-5.875	4.986	-1.178	.239	1.000
25%-Kontrol +	-13.250	4.986	-2.658	.008	.118
50%-75%	-.375	4.986	-.075	.940	1.000
50%-100%	-2.500	4.986	-.501	.616	1.000
50%-Kontrol +	-9.875	4.986	-1.981	.048	.715
75%-100%	-2.125	4.986	-.426	.670	1.000
75%-Kontrol +	-9.500	4.986	-1.905	.057	.851
100%-Kontrol +	-7.375	4.986	-1.479	.139	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .050.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Foto	Keterangan
	Sampel limbah cair tahu dari pabrik tahu UD. Jaya Sari, Karang Ploso yang kemudian diletakkan dalam wadah aseptis.
	Pembuatan media MRSA + CaCO_3 1%. Ditimbang media MRSA sebanyak 13,64 gr dan CaCO_3 2 gr, lalu ditambahkan dengan akuades sebanyak 200 ml. Kemudian dipanaskan menggunakan <i>hot plate</i> hingga mendidih serta homogen. Selanjutnya media disterilkan menggunakan autoklaf.
	Pembuatan media MRSB. Ditimbang media MRSB sebanyak 15,60 gr, lalu ditambahkan dengan akuades sebanyak 280 ml. Kemudian dipanaskan menggunakan <i>hot plate</i> hingga mendidih serta homogen. Selanjutnya media disterilkan menggunakan autoklaf.
	Sampel limbah cair tahu sebelum dilakukan pengenceran, terlebih dahulu dilakukan tahap <i>enrichment</i> menggunakan media MRSB untuk memperkaya mikroorganisme target.

Foto	Keterangan
 	Pengenceran sampel limbah cair tahu dengan 9 ml NaCl 0,9% dan 1 ml sampel dari 10^{-1} hingga 10^{-4}.
	Diambil 3 seri pengenceran terakhir sebanyak 0,1 ml, kemudian dipipet ke cawan petri secara duplo.
	Hasil pemurnian dari isolasi limbah cair tahu.
  	Karakterisasi isolat BAL, meliputi pewarnaan Gram dan endospora, uji katalase, uji tipe fermentasi, dan uji ketahanan pH.

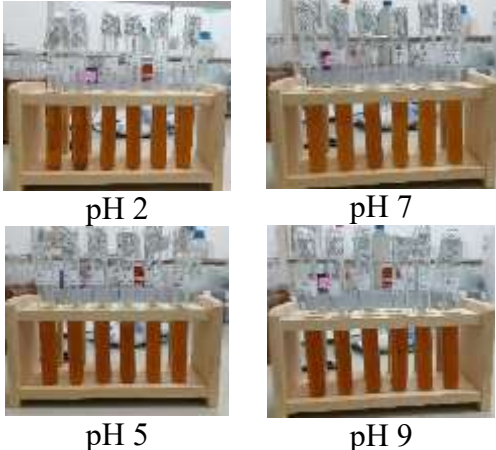
Foto	Keterangan
 pH 2 pH 7 pH 5 pH 9	Hasil uji ketahanan pH pada variasi pH 2, 5, 7, dan 9.
	Pembuatan inoculum (kultur aktif) Bakteri Asam Laktat.
	Inokulum BAL setelah difermentasi (Produksi bakteriosin).
	Ekstrak bakteriosin sebelum disentrifugasi.
	Ekstrak bakteriosin setelah disentrifugasi dan telah disaring.

Foto	Keterangan
	
	Penetralan ekstrak bakteriosin dari pH asam ke pH netral PH 7.
	Inokulum bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.
	Uji aktivitas bakteriosin terhadap bakteri uji.

Foto	Keterangan
	Pengujian KHM dan KBM bakteriosin terhadap bakteri uji dengan metode dilusi cair dan dilusi padat.

Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Uji Antibakteri Bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Kode Isolat	Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Kode Isolat	Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
LT1S 0%		LT1P 0%	
LT1S 25%		LT1P 25%	
LT1S 50%		LT1P 50%	

Kode Isolat	Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Kode Isolat	Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
LT1S 75%		LT1P 75%	
LT1S 100%		LT1P 100%	
Kontrol (+) kloramfenikol		Kontrol (+) ciprofloxacin	

Lampiran 8. Dokumentasi Hasil Uji KBM terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Ulangan	Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1		
2		
3		

Ulangan	Isolat LT1S terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Isolat LT1P terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Kontrol (+)		

Lampiran 9. Komposisi Media

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

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

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

Bahan	Jumlah
Proteose peptone	10 gram
HM peptone B [#]	10 gram
Dextrose	20 gram
Sodium acetate	5 gram
Yeast extract	5 gram
Dipotassium phosphate	2 gram
Ammonium citrate	2 gram
Tween [®] 80	1 gram
Magnesium sulfate heptahydrate	0,1 gram
Manganese sulfate tetrahydrate	0,05 gram
Final pH (at 25°C)	6,5 ± 0,2

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

Bahan	Jumlah
Beef extract	2 gram
Acid hydrolysate of casein	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar	17 gram
Distilled water	1 liter
Final pH (at 25°C)	7,3 ± 0,1

- ***Mueller-Hinton Broth (MHB)***

Bahan	Jumlah
HM infusion B from 300 g #	2 gram
Acicase™\$	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Final pH (at 25°C)	7,3 ± 0,1



JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 210602110135
Nama : KHARISMA NAFISAH PUTRI
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.
Dosen Pembimbing 2 : Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : AKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI YANG DIISOLASI DARI LIMBAH CAIR TAHU DALAM MENGHAMBAT BAKTERI STAPHYLOCOCCUS AUREUS DAN PSEUDOMONAS AERUGINOSA

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	07 Juni 2024	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi judul penelitian	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	14 Februari 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB I dan BAB III	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	06 Mei 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi dan revisi BAB I, BAB II, dan BAB III	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	06 Mei 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Konsultasi integrasi BAB I dan BAB II	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
5	09 Mei 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Konsultasi revisi integrasi BAB I dan II	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
6	09 Mei 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	ACC Proposal skripsi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
7	09 Mei 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi revisi BAB II dan III	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
8	09 Mei 2025	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	ACC Proposal skripsi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
9	12 Maret 2026	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	Bimbingan ayat integrasi BAB 4	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	12 Maret 2026	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I	ACC untuk mengajukan sidang skripsi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	12 Maret 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB 4 hasil penelitian dan pembahasan	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	20 April 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi dan revisi BAB 4 hasil penelitian dan pembahasan	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	06 Mei 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi dan revisi BAB 4 hasil penelitian dan pembahasan	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	05 Juni 2026	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	ACC untuk mengajukan sidang skripsi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Malang, 5 Juni 2026
Dosen Pembimbing 1



Ir. Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.

Pembimbing 2



M. KHILIS FAHRUDDIN, M.S.I





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

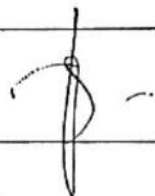
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Kharisma Nafisah Putri

NIM : 210602110135

Judul : Aktivitas Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Bakteriosin dari Limbah Cair Tahu dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	20%	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001