

**SKRIPSI**

**ISOLASI DAN *SCREENING* BAKTERI ASAM LAKTAT DARI  
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI  
*Vibrio parahaemolyticus* dan *Staphylococcus aureus***

Disusun oleh:  
**Agustinus Candra**  
NPM: 130801316



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2017**

**ISOLASI DAN SCREENING BAKTERI ASAM LAKTAT DARI  
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI  
*Vibrio parahaemolyticus* dan *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Diajukan kepada Program Studi Biologi  
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta  
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh:  
**Agustinus Candra**  
NPM: 130801316



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2017**

## PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

ISOLASI DAN *SCREENING* BAKTERI ASAM LAKTAT DARI  
FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio*  
*parahaemolyticus* dan *Staphylococcus aureus*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

**Agustinus Candra**  
**NPM: 130801316**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada hari Selasa, 14 Februari 2017  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

### SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,



(L.M. Ekawati Purwijantiningsih, M.Si)

Dosen Penguji,



(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.)


Dosen Pembimbing Pendamping,



(Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D.)

Yogyakarta, 28 Februari 2017  
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

DEKAN

  
(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.)

## PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Agustinus Candra

NPM : 130801316

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN SCREENING BAKTERI ASAM LAKTAT DARI FERMENTASI NANAS (*Ananas comosus* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* dan *Staphylococcus aureus***

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 28 Februari 2017

Yang menyatakan



Agustinus Candra

130801316

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Terima kasih Tuhan  
atas pengalaman dan perjuangan yang telah Engkau berikan kepadaku,  
Atas semua suka dan duka yang telah kulalui,  
Karena aku yakin,  
bahwa semuanya ini untuk dapat memuliakan nama-Mu

*“Aku datang bukan untuk dilayani, melainkan untuk melayani”*

*Bdk. Mrk 10:45*

**“Terima Kasih Pengalaman”**

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan yang MahaEsa atas berkat rahmat dan kasihnya penulis dapat menyelesaikan penelitian Skripsi serta menyelesaikan penyusunan naskah Skripsi yang berjudul “ISOLASI DAN *SCREENING* BAKTERI ASAM LAKTAT FERMENTASI BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* DAN *Staphylococcus aureus*”. Laporan ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan kuliah Strata 1 (S-1) konsentrasi studi Teknobiologi-Pangan di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun naskah Skripsi ini, penulis masih banyak mengalami kekurangan baik dalam hal penulisan maupun dalam penyusunan data. Maka dari itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak terkait sehingga Skripsi ini dapat menjadi suatu contoh penulisan yang baik di kemudian hari. Penulis juga berterima kasih kepada siapa saja yang telah membimbing dan membantu penulis dalam menyelesaikan naskah Skripsi ini, terutama pada:

1. Ibu L. M. Ekawati Purwijantiningsih, S. Si., M. Si., selaku dosen pembimbing utama yang memberikan banyak bantuan dan saran kepada penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan naskah skripsi

2. Bapak Ir. Ignatius Pramana Yuda, M. Si., Ph. D., selaku dosen pembimbing pendamping yang memberikan banyak bantuan dan saran kepada penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan naskah skripsi
  3. Drs. Boy Rahardjo Sidharta. M.Sc., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan kepada penulis dalam penyusunan naskah skripsi
  4. Bapak Wisnu, Ibu Wati, dan Mas Antok selaku staf Labortorium Teknobio-Pangan, Industri, dan Molekuler yang membantu dan mengizinkan penulis untuk bekerja selama penelitian berlangsung dan seluruh dosen dan karyawan FTb UAJY yang selalu membantu penulis dalam hal apapun
  5. Keluarga besar Fakultas Teknobiologi UAJY, Kak Ancilla, Kak Anin, Kak Junaidi, Kak Intan, Kak Maya, Kak Anggi, Kak Agnes, Kak Vika, Kak Adya, Kak Ade, Kak Wulan, Ibu Indri, Ayu Sura, Nando, Eunike, Ayu Tiya, Angel, Martha, Vivi, Neil, Yosphy yang terus mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi
  6. Keluarga penulis, khususnya Mama, Papa, Kakak, dan keluarga lainnya yang mendoakan penulis dari awal hingga selesainya penyusunan naskah skripsi ini
- Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dari mulai persiapan hingga laporan kerja praktek ini selesai. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, Februari 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAN BEBAS PLAGIARISME.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xi</b>
<b>INTISARI.....</b>	<b>xii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Keaslian Penelitian.....	3
C. Rumusan Masalah.....	6
D. Tujuan .....	6
E. Kegunaan Penelitian .....	7
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
A. Sistematika Nanas ( <i>Anana s comosus L.</i> ).....	8
a. Sejarah.....	8
b. Kedudukan Taksonomi .....	8
c. Kandungan Kimia .....	10
d. Jenis Nanas.....	12
B. Deskripsi dan Sumber <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
C. Deskripsi dan Sumber <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	15
D. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	16
E. Fermentasi.....	18
F. Bakteri Asam Laktat-Eksopolisakarida (BAL-EPS) .....	22
G. Hipotesis .....	23
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
A. Alat dan Bahan.....	25
B. Rancangan Percobaan .....	27
C. Cara Kerja .....	28
a. Fermentasi Buah Nanas.....	28
b. Pengukuran pH Fermentasi Nanas .....	28
c. Pengukuran Nilai Total Asam Laktat.....	28
d. Isolasi dan Purifikasi BAL.....	28
e. Karakterisasi BAL.....	29



i.	Pengecatan Gram .....	29
ii.	Uji Katalase Bakteri .....	30
iii.	Uji Motilitas Bakteri .....	30
f.	Uji Zona Hambat.....	31
i.	Persiapan .....	31
ii.	Uji Antibakteri .....	32
g.	Screening Molekuler BAL .....	32
i.	Identifikasi Molekuler Galur BAL.....	32
ii.	Visualisasi Hasil <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) Galur BAL.....	33
h.	Service Sequencing DNA.....	33
i.	Accession Number Nukelotida dengan NCBI .....	33
j.	Analisis Data .....	33
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
A.	Fermentasi Buah Nanas .....	35
B.	Nilai pH .....	37
C.	Nilai Total Asam Laktat .....	39
D.	Isolasi dan Purifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL).....	42
E.	Karakterisasi BAL .....	45
a.	Pengecatan Gram .....	45
b.	Uji Katalase Bakteri.....	47
c.	Uji Motilitas Bakteri .....	48
F.	Uji Zona Hambat .....	49
G.	Analisis Molekuler BAL .....	57
<b>V.</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>67</b>
A.	Simpulan.....	67
B.	Saran .....	68
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>69</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan vitamin buah nanas .....	11
Tabel 2. Kandungan kimia daging buah nanas masak .....	12
Tabel 3. Rancangan percobaan .....	27
Tabel 4. Primer oligonukleotida yang digunakan untuk identifikasi molekuler galur dengan gen 16S RNA .....	32
Tabel 5. Suhu pengaturan PCR identifikasi molekuler galur dengan gen 16S RNA.....	32
Tabel 6. Hasil perhitungan pH dan total asam tertitiasi (TAT) .....	37
Tabel 7. Hasil makroskopik isolat bakteri asam laktat .....	45
Tabel 8. Luas zona hambat BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	50
Tabel 9. Kategori pengukuran zona hambat .....	52
Tabel 10. Galur-galur BAL dengan identitas berdasarkan Gen 16srRNA.....	61

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi tanaman nanas.....	10
Gambar 2. Diagram proses fermentasi .....	20
Gambar 3. Nilai pH fermentasi nanas .....	38
Gambar 4. Total asam laktat fermentasi nanas .....	41
Gambar 5. Zona bening pada bakteri asam laktat .....	42
Gambar 6. Hasil koloni tunggal bakteri asam laktat .....	43
Gambar 7. Hasil pemurnian bakteri asam laktat .....	44
Gambar 8. Pengecatan Gram isolat bakteri asam laktat.....	46
Gambar 9. Hasil uji katalase isolat BAL.....	47
Gambar 10. Hasil uji motilitas isolat BAL.....	48
Gambar 11. Hasil zona hambat bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	51
Gambar 12. Rata-rata luas zona hambat bakteri asam laktat terhadap bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Gambar 13. Rata-rata diameter zona hambat bakteri asam laktat terhadap Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
Gambar 14. Hasil PCR isolat bakteri asam laktat .....	58
Gambar 15. Hasil elektroforegram.....	60
Gambar 16. Pohon filogenetik isolat bakteri asam laktat .....	65

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Nanas ( <i>Ananas comosus</i> L.) yang digunakan untuk fermentasi..	77
Lampiran 2. Hasil uji katalase.....	78
Lampiran 3. Hasil uji motilitas.....	79
Lampiran 4. Luas zona hambat <i>Staphylococcus aureus</i> .....	80
Lampiran 5. Luas zona hambat <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	81
Lampiran 6. Diameter zona hambat <i>Staphylococcus aureus</i> .....	82
Lampiran 7. Diameter zona hambat <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	82
Lampiran 8. Hasil uji ANAVA .....	83
Lampiran 9. <i>Pre-Treatment Report Sequencing</i> isolat bakteri asam laktat .....	85
Lampiran 10. Hasil kromatogram isolat bakteri asam laktat .....	87
Lampiran 11. Hasil <i>Sequencing</i> Isolat Bakteri Asam Laktat .....	90

## INTISARI

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang mempunyai banyak kegunaan di bidang pangan fungsional maupun penghambat pertumbuhan bakteri patogen. BAL dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayur-sayuran yang mengalami fermentasi. Nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu buah-buahan yang mempunyai kandungan gula sebanyak 12% yang merupakan jumlah kandungan gula terbaik (12-18%) untuk terjadinya fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan BAL fermentasi buah nanas terhadap kemampuannya sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Staphylococcus aureus* yang kemudian akan dilakukan *Screening* molekuler untuk melihat spesies BAL yang ditemukan. Fermentasi nanas dilakukan dengan metode fermentasi spontan selama 72 jam dengan suhu 37°C. Isolasi BAL menggunakan medium MRS (*De Man Rogosa and Shape*) agar + CaCO<sub>3</sub> 1% menghasilkan 5 isolat bakteri asam laktat yang kemudian diuji karakterisasinya berupa pengecatan Gram, uji katalase, dan uji motilitas dimana semua isolat menunjukkan karakterisasi BAL pada umumnya yaitu berbentuk *basil* dan *rod*, hasil negatif pada uji katalase, dan non-motil pada uji motilitas. Uji zona hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* dan *S. aureus* menunjukkan hasil beda nyata dengan zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 0,325 cm<sup>2</sup> dan terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* sebesar 0,677 cm<sup>2</sup>. Berdasarkan indentifikasi molekuler galur BAL menggunakan gen 16S rRNA yang dilakukan melalui PCR koloni dengan primer LABfw (5'-AGAGTTTGATYDTGGCTCAG-3') dan LABrv (5'-CACCGCTACAC ATGGAG-3') didapatkan kelima isolat BAL merupakan spesies *Lactobacillus plantarum* yang kemudian diberinama *Lactobacillus plantarum* strain AC1BIOUAJY.

**Kata kunci:** Nanas, antibakteri, *Screening*, *V. parahemolyticus*, *S. aureus*.