

SKRIPSI

**KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS
DARI BAHAN PANGAN SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK**

Disusun Oleh:
Mellysa
NPM: 150801612



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2019**

**KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS
DARI BAHAN PANGAN SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK**

SKRIPSI

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

Disusun oleh:

Mellysa

NPM: 150801612



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul:

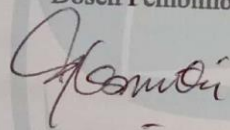
**KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS DARI
BAHAN PANGAN SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:
Mellysa
NPM: 150801612

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Selasa, 15 Oktober 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

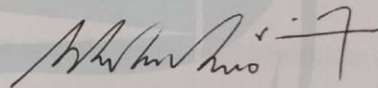
Susunan Tim Penguji

Dosen Pembimbing Utama



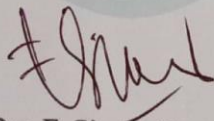
(L.M. Ekawati Purwijantiningsih S.Si, M.Si)

Dosen Penguji



(Drs. B. Boy R. Sidharta, M.Sc.)

Dosen Pembimbing Pendamping

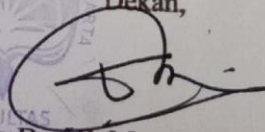


(Drs. F. Sinung Pranata, M.P)

Yogyakarta, 31 Oktober 2019

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**

Dekan,



(Dr. Dra. E. Mursyanti, M.Si.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mellysa

NPM : 150801612

Judul Skripsi : Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Indigenous Dari Bahan Pangan Sebagai Kandidat Probiotik

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan 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 terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku, yaitu dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, Agustus 2019



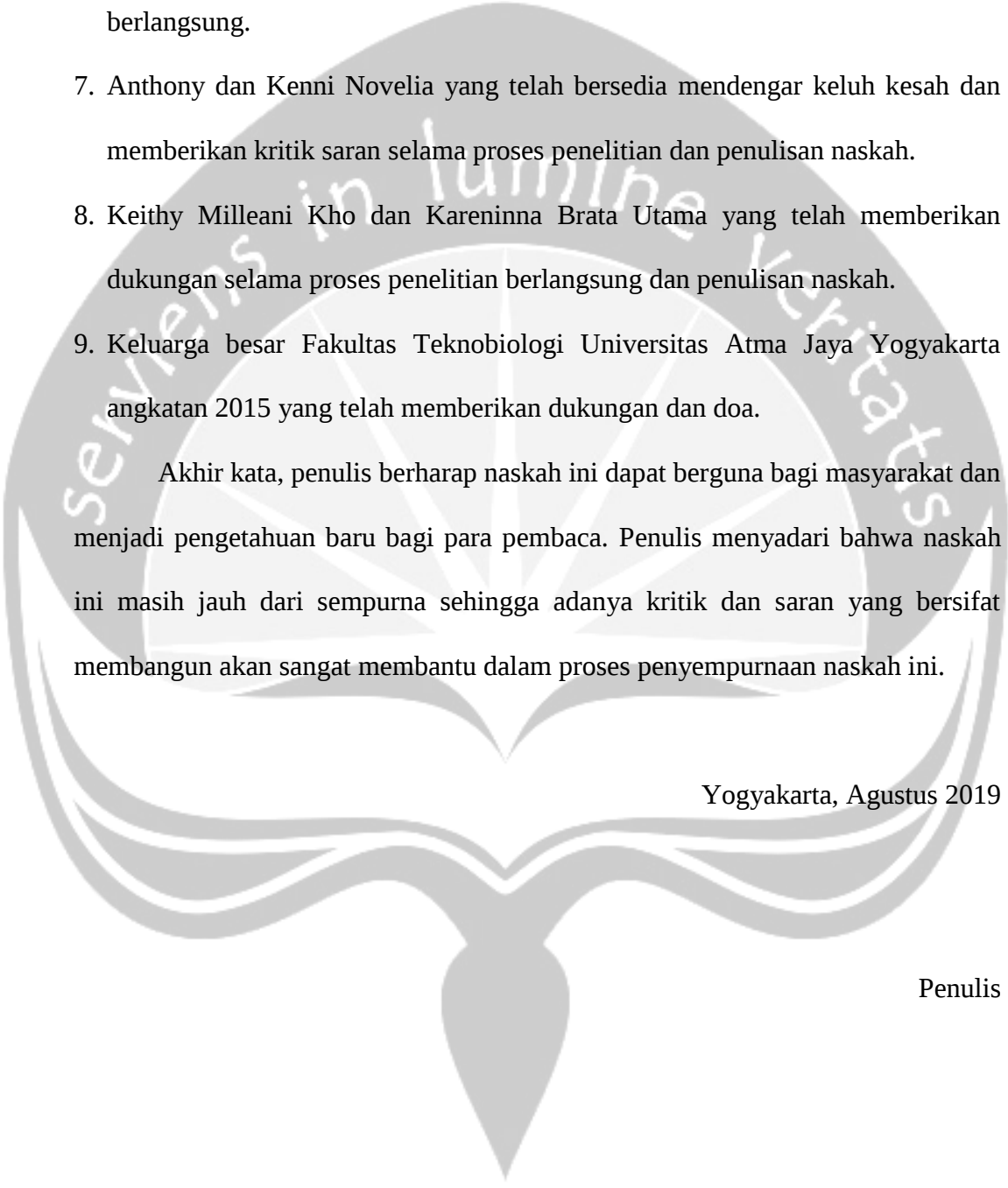
Mellysa

150801612

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan penyertaan-Nya, penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Indigenous Dari Bahan Pangan Sebagai Kandidat Probiotik” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata-1 Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Penulis menyadari bahwa selama pelaksanaan penelitian dan penulisan naskah tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Keluarga yang selalu memberi dukungan, doa, dan semangat dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan naskah.
2. Ibu L. M. Ekawati Purwijantiningsih S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah memberi arahan kepada penulis selama penelitian berlangsung dan penulisan naskah.
3. Bapak Drs. Fransiskus Sinung Pranata, M.P., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberi arahan kepada penulis selama penelitian berlangsung dan penulisan naskah.
4. Dosen Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan ilmu selama proses perkuliahan.
5. Bapak Wisnu dan Mbak Vita serta seluruh laboran Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah membantu selama proses penelitian berlangsung.

- 
6. Staff tata usaha Fakultas Teknobiologi Atma Jaya Yogyakarta yang telah membantu mengurus administrasi selama proses perkuliahan dan penelitian berlangsung.
 7. Anthony dan Kenni Novelia yang telah bersedia mendengar keluh kesah dan memberikan kritik saran selama proses penelitian dan penulisan naskah.
 8. Keithy Milleani Kho dan Kareninna Brata Utama yang telah memberikan dukungan selama proses penelitian berlangsung dan penulisan naskah.
 9. Keluarga besar Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta angkatan 2015 yang telah memberikan dukungan dan doa.

Akhir kata, penulis berharap naskah ini dapat berguna bagi masyarakat dan menjadi pengetahuan baru bagi para pembaca. Penulis menyadari bahwa naskah ini masih jauh dari sempurna sehingga adanya kritik dan saran yang bersifat membangun akan sangat membantu dalam proses penyempurnaan naskah ini.

Yogyakarta, Agustus 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xiv
 I. PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian	2
C. Rumusan Masalah	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
 II. TINJAUAN PUSTAKA	 6
A. Deskripsi Makanan Fermentasi	6
B. Deskripsi Bakteri Asam Laktat	7
C. Deskripsi Probiotik	8
1. Ketahanan terhadap pH Asam	9
2. Ketahanan terhadap Garam Empedu	10
3. Senyawa Antimikrobia	11

D. Deskripsi <i>Bacillus cereus</i>	11
E. Deskripsi <i>Salmonella thyphimurium</i>	12
F. Hipotesis.....	13
III. METODE PENELITIAN.....	14
A. Waktu dan Tempat Penelitian	14
B. Alat dan Bahan.....	14
C. Rancangan Percobaan	15
D. Cara Kerja	15
1. Pemurnian dan Perbanyakan Isolat Bakteri Asam Laktat	15
2. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat.....	17
3. Uji Ketahanan Suhu dan Garam NaCl.....	18
4. Uji Fermentasi Gula	18
5. Uji Ketahanan pH Asam.....	19
6. Uji Ketahanan Garam Empedu.....	19
7. Uji Senyawa Antimikrobia	19
8. Analisis Data	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
A. Pemurnian dan Penyegaran Isolat Bakteri Asam Laktat.....	21
B. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat	21
a. Pengecatan Gram.....	22
b. Motilitas.....	24
c. Katalase	26
C. Fermentasi Gula	27

D. Ketahanan Suhu	31
E. Ketahanan Garam NaCl	33
F. Ketahanan pH Asam	35
G. Ketahanan Garam Empedu	38
H. Aktivitas Antimikrobia	40
V. SIMPULAN DAN SARAN	44
A. Simpulan	44
B. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rancangan Percobaan Diameter Zona Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap <i>B. cereus</i> dan <i>S. thyphimurium</i>	16
Tabel 2. Hasil Karakterisasi Isolat BAL	22
Tabel 3. Hasil Uji Fermentasi Gula Isolat BAL.....	28
Tabel 4. Hasil Uji Ketahanan Suhu Isolat BAL	31
Tabel 5. Hasil Uji Ketahanan Garam NaCl Isolat BAL.....	33
Tabel 6. Hasil Uji Ketahanan pH Asam Isolat BAL	36
Tabel 7. Hasil Uji Ketahanan Garam Empedu Isolat BAL	39
Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia Isolat BAL terhadap Bakteri Gram Positif (<i>B. cereus</i>) dan Gram negatif (<i>S. thyphimurium</i>).....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Koloni Tunggal Isolat K1 pada Medium MRSA ditambah CaCO_3	21
Gambar 2. Gram Positif Isolat C3.....	23
Gambar 3. Non-motil Isolat G4	25
Gambar 4. Katalase Negatif Isolat V2	26
Gambar 5. Perubahan Warna Medium menjadi Kuning Isolat G4.....	28
Gambar 6. Hasil Uji Ketahanan Suhu	32
Gambar 7. Hasil Uji Ketahanan Garam NaCl.....	34
Gambar 8. Ketahanan Hidup Isolat BAL Pada pH 2,5 dan 3,0	35
Gambar 9. Ketahanan Hidup Isolat BAL Pada Garam Empedu 0,3 %	39
Gambar 11. Kemampuan Penghambatan Isolat BAL terhadap <i>B. cereus</i>	41
Gambar 12. Kemampuan Penghambatan Isolat BAL terhadap <i>S. typhimurium</i> . 42	

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Uji Ketahanan pH Asam	55
Lampiran 2. Hasil Uji Ketahanan Garam Empedu	56
Lampiran 3. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia terhadap <i>B. cereus</i> dan <i>S. typhimurium</i>	57
Lampiran 4. Hasil Pemurnian BAL Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	58
Lampiran 5. Hasil Pengecatan Gram Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	59
Lampiran 6. Hasil Motilitas BAL Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	60
Lampiran 7. Hasil Katalase BAL Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	60
Lampiran 8. Hasil Fermentasi Gula Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	61
Lampiran 9. Hasil Ketahanan Suhu Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	62
Lampiran 10. Hasil Ketahanan Garam NaCl Isolat V1 (a), V2 (b), V4 (c), R4 (d), G4 (e), G5 (f), AB3 (g), K1 (h), Gt2 (i), dan C3 (j)	63
Lampiran 11. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat V1 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	63
Lampiran 12. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat V2 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	64
Lampiran 13. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat V4 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	64
Lampiran 14. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat R4 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	64

Lampiran 15. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat G4 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	65
Lampiran 16. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat G5 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	65
Lampiran 17. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat AB3 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	65
Lampiran 18. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat K1 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	66
Lampiran 19. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat Gt2 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	66
Lampiran 20. Hasil Ketahanan pH Asam Isolat C3 Kontrol (a), pH 2,5 (b), dan pH 3,0 (c)	66
Lampiran 21. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat V4 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	67
Lampiran 22. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat R4 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	67
Lampiran 23. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat G4 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	67
Lampiran 24. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat G5 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	68
Lampiran 25. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat K1 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	68
Lampiran 26. Hasil Ketahanan Garam Empedu Isolat C3 Kontrol (a) dan Garam Empedu 0,3 % (b)	68
Lampiran 27. Hasil Uji ANAVA Pengaruh Perbedaan Isolat BAL terhadap Diameter Zona Hambat <i>B. cereus</i>	68
Lampiran 28. Hasil Uji ANAVA Pengaruh Perbedaan Isolat BAL terhadap Diameter Zona Hambat <i>S. typhimurium</i>	69
Lampiran 29. Hasil Uji ANAVA Pengaruh Perbedaan Isolat BAL terhadap Gram Bakteri	69

Lampiran 30. Hasil Uji ANAVA Pengaruh Perbedaan Isolat BAL terhadap Diameter Zona Hambat <i>B. cereus</i> dan <i>S. thyphimurium</i>	69
Lampiran 31. Hasil Uji DMRT Pengaruh Perbedaan Isolat BAL terhadap Diameter Zona Hambat <i>B. cereus</i> dan <i>S. thyphimurium</i>	69
Lampiran 32. Hasil Uji ANAVA Jumlah Bakteri Awal Perlakuan pH Asam	70
Lampiran 33. Hasil Uji DMRT Jumlah Bakteri Awal Perlakuan pH Asam	70
Lampiran 34. Hasil Uji ANAVA Jumlah Bakteri pada pH 2,5	70
Lampiran 35. Hasil Uji DMRT Jumlah Bakteri pada pH 2,5	70
Lampiran 36. Hasil Uji ANAVA Ketahanan Hidup Bakteri pada pH 2,5.....	71
Lampiran 37. Hasil Uji DMRT Ketahanan Hidup Bakteri pada pH 2,5.....	71
Lampiran 38. Hasil Uji ANAVA Jumlah Bakteri pada pH 3,0	71
Lampiran 39. Hasil Uji DMRT Jumlah Bakteri pada pH 3,0	72
Lampiran 40. Hasil Uji ANAVA Ketahanan Hidup pada pH 3,0.....	72
Lampiran 41. Hasil Uji DMRT Ketahanan Hidup pada pH 3,0	72
Lampiran 42. Hasil Uji ANAVA Jumlah Bakteri Awal Garam Empedu	73
Lampiran 43. Hasil Uji DMRT Jumlah Bakteri Awal Perlakuan Garam Empedu	73
Lampiran 44. Hasil Uji ANAVA Jumlah Bakteri pada Garam Empedu 0,3 %....	73
Lampiran 45. Hasil Uji DMRT Jumlah Bakteri pada Garam Empedu 0,3 %.....	73
Lampiran 46. Hasil Uji ANAVA Ketahanan Hidup pada Garam Empedu 0,3 %	74
Lampiran 47. Hasil Uji DMRT Ketahanan Hidup pada Garam Empedu 0,3 %...	74

INTISARI

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikrobial yang secara alami terdapat dalam saluran pencernaan. Probiotik merupakan mikrobial yang ditambahkan ke dalam bahan pangan yang memberikan efek menguntungkan pada kesehatan manusia. Suatu bakteri dapat dikatakan memiliki sifat probiotik apabila tahan terhadap pH asam dan garam empedu, memiliki aktivitas antimikrobia, memiliki kemampuan untuk melekat pada mukus, dan mampu mencerna prebiotik. Oleh karena itu, perlu dilakukan seleksi probiotik pada isolat BAL yang berasal dari air nira kelapa, rusip, growol, asinan bogor, kepel, gatot, dan cinalok karena tidak semua BAL bersifat probiotik. Hasil penelitian menunjukkan isolat *Leuconostoc mesenteroides* (V4 dan K1), isolat *Enterococcus durans* (R4 dan C3), isolat *Enterococcus lactis* (G4), dan isolat *Enterococcus faecium* (G5) berpotensi sebagai probiotik dengan ketahanan hidup ≥ 50 % pada pH 2,5 dan 3,0 serta garam empedu 0,3 %. Diameter zona hambat terhadap Gram positif (*Bacillus cereus*) sebesar 3,33 mm dan Gram negatif (*Salmonella typhimurium*) sebesar 1,64 mm.