

# Skrining dan Uji Aktivitas Lactobacillus plantarum sebagai kandidat probiotik

*by Istiyati Inayah -*

---

**Submission date:** 23-Aug-2023 09:18PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 2149970469

**File name:** LAPORAN\_AKHIR\_2018\_Skrining\_dan\_Uji\_Aktivitas\_Lactobacillus.pdf (3.75M)

**Word count:** 8655

**Character count:** 56212

**LAPORAN AKHIR**  
**PENELITIAN HIBAH FAKULTAS TEKNIK**  
**UNPAS**



Judul Penelitian:  
Skrining dan Uji Aktivitas *Lactobacillus plantarum*  
Sebagai Kandidat Probiotik

Ketua : Istiyati Inayah, M.Si NIPY: 15110581

**FAKULTAS TEKNIK**  
**UNIVERSITAS PASUNDAN BANDUNG**  
**FEBRUARI 2019**

## Halaman Pengesahan

### HIBAH FAKULTAS TEKNIK UNPAS

1. Judul Penelitian : Skrining dan Uji Aktivitas *Lactobacillus plantarum* Sebagai Kandidat Probiotik
2. Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap : Istiyati Inayah, S.Si., M.Si.
  - b. NIPY : 151 105 81
  - c. Fakultas : Teknik
  - d. Perguruan Tinggi : Universitas Pasundan
  - e. Alamat : Jl Setiabudi No 193 Bandung
  - f. Telpon/Faks : 022-2019435/022-2019329
  - g. E-Mail : istiyati.inayah@unpas.ac.id
3. Anggota Peneliti
  - a. Nama Lengkap : -
  - b. NIPY : -
  - c. Fakultas : -
  - d. Perguruan Tinggi : -
  - e. Alamat : -
  - f. Telpon/Faks : -
  - g. E-Mail : -
4. Waktu Penelitian : 1 tahun
5. Pembiayaan : Rp. 8.000.000,00
6. Pengeluaran : Rp. 10.686.600,00
7. Saldo : -

Bandung, 23 Februari 2019

Menyetujui,  
Wakil Dekan I

Ketua Peneliti,

Dr. Ririn Dwi Agustin, ST., MT.  
NIPY: 151 102 68

Istiyati Inayah, S.Si., M.Si  
NIPY: 151 105 81

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan

Ketua Lembaga Penelitian  
Universitas Pasundan

Dr. Ir. Yusman Taufik, MP.  
NIPY: 151 102 30

Dr. Ir. Bambang Ariantara, M.T.  
NIPY: 151 100 43

## ABSTRAK

*Lactobacillus* banyak digunakan dalam pembuatan produk fermentasi. Selain itu, dikonsumsi juga secara mandiri sebagai probiotik. Namun, tidak semua bakteri mampu berperan sebagai probiotik. Probiotik harus aman, mampu bertahan dalam saluran cerna dan terbukti memberikan efek terhadap kesehatan. Strain bakteri yang berbeda memiliki karakteristik yang berbeda pula. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan skrining dan uji aktivitas terhadap *Lactobacillus plantarum*. Parameter uji yang dilakukan meliputi pengujian keamanan bakteri, ketahanan pada saluran cerna, pengujian aktivitas antimikroba dan kemampuan menghasilkan enzim *bile salt hydrolase*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *L. plantarum* dapat digunakan sebagai probiotik karena memenuhi kriteria aman (sensitif terhadap antibiotik dan tidak menyebabkan hemolisis). *L. plantarum* dapat digunakan sebagai probiotik karena memenuhi kriteria tahan dalam saluran pencernaan (toleran terhadap lisozim, asam lambung dan garam empedu, dengan % toleransi berturut-turut 88,32; 97,71; dan 97,45). *L. plantarum* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, namun aktivitas antimikroba sangat lemah dalam menghambat ragi *Candida albicans*. *L. plantarum* memiliki aktivitas enzim *bile salt hydrolase*.

Kata Kunci : *Lactobacillus plantarum*, skrining, probiotik, aktivitas *bile salt hydrolase*



## **ABSTRACT**

*Lactobacillus* is widely used in fermentation products. In addition, it is also consumed independently as a probiotic. However, not all bacteria can act as probiotics. Probiotics must be safe, able to survive in the digestive tract and proven to have an effect on health. Different bacterial strains have different characteristics. Therefore, in this study screening and testing of activity against *Lactobacillus plantarum* was carried out. Test parameters included testing of bacterial safety, digestive tract tolerance, testing of antimicrobial activity and the ability to produce bile salt hydrolase enzymes. The results showed that *L. plantarum* could be used as a probiotic because it met the criteria of being safe (sensitive to antibiotics and not causing hemolysis). *L. plantarum* can be used as a probiotic because it fulfills the criteria of resistance in the digestive tract (tolerant of lysozyme, stomach acid and bile salts, with percentages of 88.32; 97.71; and 97.45 respectively). *L. plantarum* can inhibit growth *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*, but the antimicrobial activity is very weak in inhibiting yeast *Candida albican.*, *L. plantarum* has bile salt hydrolase enzyme activity.

*Keywords: Lactobacillus plantarum, screening, probiotics, bile salt hydrolase activity*

## DAFTAR ISI

Halaman Pengesahan .....	i
Abstrak .....	ii
<i>Abstract</i> .....	iii
Daftar Isi .....	iv
Daftar Tabel .....	v
Daftar Gambar .....	vi
BAB I. Pendahuluan .....	1
BAB II. Tinjauan Pustaka .....	3
BAB III. Tujuan dan Manfaat Penelitian .....	6
BAB IV. Metode Penelitian .....	7
4.1 Waktu & Tempat Penelitian .....	7
4.2 Bahan .....	7
4.3 Alat .....	7
4.4 Alur Penelitian .....	7
4.5 Cara Kerja .....	8
BAB V. Hasil dan Pembahasan .....	10
5.1 Pengujian Parameter Keamanan <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	10
5.2 Pengujian Parameter Ketahanan dalam Saluran Pencernaan .....	13
5.3 Pengujian aktivitas antimikroba .....	21
5.4 Pengujian aktivitas enzim bile salt hydrolase .....	27
BAB VI. Kesimpulan dan Saran .....	29
Daftar Pustaka .....	30

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Sensitivitas <i>L. plantarum</i> terhadap antibiotik .....	16
Tabel 5.2	Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Lisozim .....	19
Tabel 5.3	Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Asam Lambung...	21
Tabel 5.4	Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Garam Empedu ...	25
Tabel 5.5	Diameter Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap mikroba Uji .....	28
Tabel 5.6	Nilai MIC dan MBC Bakteri Asam Laktat terhadap mikroba uji .....	32

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Alur penelitian .....	8
Gambar 5.1 Jenis-jenis aktivitas hemolisis pada bakteri .....	18
Gambar 5.2 Pengujian aktivitas hemolisis pada <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	19
Gambar 5.3 Hasil pengujian aktivitas enzim bile salt hydrolase pada <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	33

## BAB I. PENDAHULUAN

Produk pangan fermentasi merupakan salah satu alternatif produk pangan fungsional karena beberapa produk fermentasi mengandung bakteri hidup yang dapat bermanfaat bagi kesehatan (probiotik). Selama ini produk yang dikenal adalah yoghurt, suatu produk fermentasi berbasis susu menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophiles*. Namun tidak semua orang cocok mengkonsumsi produk fermentasi berbasis susu dikarenakan adanya kasus reaksi alergi terhadap komponen susu, penyakit *lactose intolerant* dan tren gaya hidup vegetarian. Sehingga diperlukan suatu alternatif produk pangan fermentasi bukan berbasis susu, menggunakan bakteri yang termasuk dalam kategori probiotik.

Pada penelitian sebelumnya (tahap 1), dilakukan fermentasi substrat Terung Belanda menggunakan variasi bakteri asam laktat sebagai kandidat minuman sinbiotik. Sinbiotik sendiri didefinisikan sebagai produk yang mengandung bakteri probiotik dan senyawa karbohidrat yang berperan sebagai prebiotik. Pada penelitian tersebut dilakukan perbandingan pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dalam substrat jus Terung Belanda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *L. plantarum* pada substrat jus Terung Belanda lebih baik dibandingkan *L. acidophilus*. Hal tersebut dilihat dari panjangnya fase eksponensial, dengan laju pertumbuhan spesifik ( $\mu_s$ ) 0,185/jam. Panjangnya fase eksponensial berpengaruh terhadap umur simpan produk fermentasi dan viabilitas sel pada kondisi substrat fermentasi.

Jika suatu produk ingin diklaim sebagai produk sinbiotik, maka harus dapat dibuktikan bahwa bakteri yang digunakan dalam fermentasi atau yang ditambahkan dalam produk memenuhi syarat sebagai bakteri probiotik. Selain itu harus dikaji pula apakah produk tersebut mengandung prebiotik atau tidak. Sehingga diperlukan kajian lanjutan mengenai probiotik dan prebiotiknya, yang pada penelitian tahap 2 ini akan dikaji terlebih dahulu apakah *L. plantarum* memenuhi syarat sebagai probiotik atau tidak. Syarat yang harus dipenuhi oleh probiotik dapat ditinjau dari aspek keamanan, aspek ketahanan dalam saluran cerna (viabilitas) dan aspek

kesehatan. Pada penelitian ini akan dikaji aktivitas *L.plantarum* dalam memberikan efek kesehatan, yang dalam penelitian ini hanya akan difokuskan pada efek penurunan kolesterol darah melalui uji aktivitas enzim *bile salt hydrolase* secara *in vitro*.

Penelitian mengenai potensi *L.plantarum* sebagai probiotik sudah banyak dilakukan. Cebeci (2003) menguji 15 strain *Lactobacillus*, hasil penelitian menunjukkan bahwa *L. plantarum* 37, *L. plantarum* 80, *L. plantarum* NCIMB 1193 dan *L. plantarum* HU berpotensi sebagai probiotik. Hasil penelitian Nguyen (2007) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* PH04 (isolate dari feses bayi yang baru lahir) berpotensi sebagai probiotik dengan efek penurunan kolesterol. Zago (2011) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* Lp790, Lp813, Lp998 (Isolat bakteri dari keju) merupakan probiotik potensial terbaik dan dapat digunakan sebagai kultur pemula pada produksi pangan fermentasi probiotik.

Walaupun sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk menguji potensi *L. plantarum* sebagai probiotik, namun perbedaan strain dalam satu spesies *L. plantarum* menghasilkan hasil uji yang berbeda-beda. Hal ini dapat dipengaruhi oleh asal sumber isolat ataupun kondisi geografis dimana bakteri tersebut diisolasi. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Martino (2016), yang menunjukkan bahwa dari 54 strain *L. plantarum* yang diisolasi dari sumber berbeda menunjukkan karakteristik yang berbeda pula. Sehingga dalam penelitian ini dilakukan skrining dan uji aktivitas *L. plantarum* isolat lokal Indonesia sebagai kandidat probiotik.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang ketika ditambahkan pada produk pangan pada jumlah yang cukup akan bermanfaat bagi kesehatan (FAO, 2009). Probiotik ditambahkan pada bahan pangan dalam bentuk pangan fermentasi, suplemen (dalam bentuk serbuk). Minuman probiotik dikategorikan ke dalam pangan fungsional, yaitu pangan yang diklaim dapat meningkatkan kesehatan manusia, selain kebutuhan dasar terhadap nutrisi (Stanton, 2005)

Berdasarkan hasil penelitian, keberadaan bakteri probiotik terbukti dapat bermanfaat bagi kesehatan. Dalam review yang ditulis oleh Prado dkk (2008), strain probiotik digunakan dalam mencegah dan mengobati beberapa penyakit, yaitu pada penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri dan virus, pada infeksi yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori*, *Inflammatory disease and bowel syndromes*, kanker saluran pencernaan, imunitas saluran pencernaan, reaksi alergi, penyakit kardiovaskular, vaginitis oleh bakteri dan jamur dan pada infeksi saluran kencing.

Tidak semua BAL dapat digunakan dalam pembuatan minuman probiotik, hal tersebut berkaitan dengan keamanan bakteri yang digunakan, viabilitas sel selama proses dan pendistribusian produk, kemampuannya dalam menghasilkan perubahan cita rasa bahan baku yang disukai konsumen (organoleptik), serta efek kesehatan yang diberikannya. Beberapa kriteria yang harus dimiliki oleh bakteri probiotik adalah tahan terhadap kondisi asam pada saluran pencernaan, tahan terhadap garam empedu pada usus halus. Skrining dan seleksi probiotik meliputi pengujian kestabilan sifat fenotif dan genotif, termasuk stabilitas dari plasmid, kemampuan penempelan (adhesi) di sel epitel usus halus, pola penggunaan protein dan karbohidrat, produksi senyawa antimikroba, pola resisten terhadap antibiotic, kemampuan untuk menghambat bakteri patogen, bakteri pembusuk dan imunogenisitasnya (Harzalah et al, 2013; Daliri dan Lee, 2015)

Bakteri probiotik yang paling banyak digunakan untuk membuat produk fermentasi adalah dari kelompok BAL dan *bifidobacteria*. Bakteri dari genus bakteri asam laktat diklasifikasikan berdasarkan morfologi dan jalur fermentasinya dalam menguraikan glukosa. Bakteri Asam Laktat digolongkan menjadi homofermentatif dan heterofermentatif berdasarkan jalur fermentasinya. Bakteri homofermentatif memproduksi asam laktat sebagai metabolit utamanya sedangkan bakteri heterofermentatif memproduksi asam laktat, etanol dan CO<sub>2</sub>. Bakteri yang termasuk kategori bakteri asam laktat yang paling penting adalah *Leuconoctoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. Bakteri ini optimum tumbuh pada suhu 35-40°C dan pada pH 5,5-6 tetapi dapat tahan pada pH 6,4-4,5. (Espinoza, 2010)

## **2.2 *Lactobacillus plantarum***

Shekh (2016) melakukan karakterisasi strain *Lactobacillus plantarum* berdasarkan aspek fungsional, kemampuan memberikan efek terhadap kesehatan dan keamanannya. Pengujian terhadap aspek fungsional meliputi pengujian ketahanan terhadap asam, empedu, fenol dan garam, pengujian ketahanan selama dalam saluran pencernaan, pengujian terhadap kemampuan menempel pada mucin, pengujian autoagregasi, pengujian hidrofobisitas dan pengujian aktivitas antimikroba. Berdasarkan aspek kesehatan, pengujian yang dilakukan meliputi kemampuan dekonjugasi garam empedu, pengujian aktivitas β-Galaktosidase dan produksi GABA. Sedangkan berdasarkan aspek keamanan, pengujian yang dilakukan meliputi pengujian kerentanan terhadap antibiotik, aktivitas degradasi mucin, deteksi produksi amin biogenik, pengujian hemolisis dan pengujian aktivitas DNase. Hasil penelitian Shekh (2016) menunjukkan bahwa strain *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari buah-buahan dan makanan fermentasi berpotensi digunakan sebagai probiotik karena mampu bertahan terhadap enzim, pH ekstrim dan empedu dengan vabilitas yang baik (lebih dari 50% sel bertahan hidup). Isolat mampu menempel pada mucin dan mengalami autoagregasi secara spesifik. Selain itu, isolat menunjukkan aktivitas antimikroba, mampu memproduksi enzim β-



Galaktosidase dan enzim *bile salt hydrolase* yang berperan dalam peningkatan efek terhadap kesehatan.

### **2.3 Efek Kesehatan Probiotik sebagai Penurun Kolesterol Darah**

Beberapa hipotesis diajukan untuk menjelaskan mekanisme probiotik dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Hipotesis yang diajukan meliputi reaksi dekonjugasi empedu oleh enzim *bile salt hydrolase* (Lye dkk, 2010), pengikatan kolesterol ke permukaan sel probiotik dan penggabungan molekul kolesterol ke dalam membrane sel probiotik, produksi asam lemak rantai pendek dari oligosakarida, ko-presipitasi kolesterol dengan empedu terkonjugasi (Kumar dkk, 2012) dan konversi kolesterol menjadi koprostanolin (Philippe, 2014). Dari semua hipotesis yang diajukan, teori *bile salt hydrolase* yang paling populer.

*Bile salt hydrolase* (BSH) merupakan enzim yang diproduksi bakteri di saluran pencernaan yang mengkatalisis reaksi dekonjugasi glisin dan taurin yang berikatan dengan garam empedu (Patel dkk, 2010). Dalam review yang ditulis Patel (2010), BSH berperan penting terhadap ketahanan bakteri terhadap garam empedu dan berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Sel hepatosit hati memproduksi garam empedu yang dapat meningkatkan transport kolesterol dan lemak melewati epitelium sel usus halus. Asam empedu berkonjugasi dengan glisin membentuk *glycocholic acid (cholyglycine)* atau dengan taurin membentuk *taurocholic acid*. Garam empedu yang terkonjugasi memiliki kelarutan yang tinggi sehingga dapat masuk ke sirkulasi darah setelah diabsorpsi sehingga menyebabkan akumulasi dalam darah. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* mampu menghasilkan BSH yang dapat memutus ikatan peptida antara garam empedu dengan konjugatnya sehingga hanya ada garam empedu bebas yang sangat rendah diabsorpsi oleh epitelium sel usus halus dan dibuang melalui feses. (Daliri dan Lee, 2015)

Aktivitas BSH ditemukan sebagian besar pada bakteri gram positif, dan biasanya ditemukan pada bakteri probiotik, seperti *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Bacteroides* dan *Enterococcus*. Aktivitas BSH tertinggi ditemukan pada genus *Enterococcus* (Yoon, 2008).

### **BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan *Lactobacillus plantarum* (kultur koleksi laboratorium mikrobiologi, Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pasundan) sebagai probiotik, dengan parameter keamanan, ketahanan dalam saluran cerna, dan aktifitas fungsionalnya. Manfaat dari penelitian ini adalah informasi karakteristik bakteri *Lactobacillus plantarum* sebagai probiotik yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan produk fermentasi maupun dibuat sebagai probiotik murni dengan tujuan mendapatkan efek kesehatan.

## BAB IV. METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan (Jl. Dr. Setiabudi no. 193 Bandung) dari bulan April 2018 sampai dengan bulan Desember 2018.

### 4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi biakan murni dari *Lactobacillus plantarum*. Selain itu digunakan juga kultur bakteri gram + dan gram – untuk pengujian aktivitas antibakteri. Bahan-bahan yang digunakan untuk skrining probiotik adalah media de Man Rogose Sharpe (MRS) agar, MRS cair, darah domba, *taurodeoxycholic acid*, standar histidin, kertas cakram berisi antibiotik, etanol, HCl, NaCl dan CaCl<sub>2</sub>.

Bahan habis pakai yang diperlukan untuk menunjang aktivitas laboratorium meliputi kapas lemak, kassa, alkohol 70%, spirtus, masker dan *gloves*.

### 4.3 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi beserta raknya, labu erlenmeyer, baker glass, buret, pipet volum, mikropipet beserta tipsnya, cawan petri, microplate spatula, batang pengaduk, gelas ukur, kawat oose, autoklaf, spektrofotometer, mikroskop.

### 4.4 Alur Penelitian

Alur penelitian menggambarkan tahapan-tahapan pekerjaan yang akan dilakukan sampai dihasilkan produk akhir. Alur penelitian tergambar pada *fishbone diagram* di gambar 1.



Gambar 3.1 Alur penelitian

#### 4.5 Cara kerja

##### 4.5.1 Peremajaan kultur bakteri

Kultur yang akan digunakan dilakukan peremajaan setiap 2 minggu sekali dalam media MRS agar. Kemudian media yang sudah diinokulasi bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Untuk mengawetkan kultur, maka disimpan dalam *refrigerator* suhu 4°C.

Pembuatan inokulum bakteri meliputi penanaman kultur pada media MRS cair, dilanjutkan dengan proses aktivasi pada media terong belanda setelah inkubasi 24 jam pada MRS cair. Inokulum yang digunakan adalah kultur cair pada media terong belanda setelah inkubasi 24 jam. Jika inokulum tidak langsung digunakan, maka disimpan di kulkas untuk sementara waktu.

##### 4.5.2 Identifikasi *Lactobacillus plantarum*

Kultur *L. plantarum* yang digunakan merupakan kultur koleksi Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan. Untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah *L. plantarum*, maka dilakukan kembali identifikasi bakteri menggunakan kit API CH 50.

##### 4.5.3 Skrining *Lactobacillus plantarum*

Bakteri asam laktat yang dipilih pada penelitian ini memiliki kriteria aman, memiliki viabilitas tinggi pada saluran cerna dan mampu menghasilkan *bile salt*

*hydrolase*. Proses skrining pertama adalah pengujian keamanan dengan melakukan pengujian kerentanan terhadap antibiotik dan pengujian hemolisis (Shekh dkk, 2016). Kerentanan terhadap antibiotik diuji menggunakan metode difusi agar. Pengujian aktivitas hemolisis dilakukan dengan menginokulasikan kultur dalam media agar MRS yang ditambah 5% darah manusia dengan metode gores. Aktivitas hemolisis ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar goresan kultur setelah diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 37°C.

Tahap kedua adalah pengujian viabilitas sel bakteri dilihat dari ketahanan BAL terhadap lisozim, asam lambung dan garam empedu. Metode yang digunakan diadopsi dari Jacobsen dkk (1999). Suspensi sel sebanyak 50  $\mu$ L diinokulasikan ke dalam 3 ml media MRS cair yang ditambahkan 2,4% garam empedu dan 6% NaCl, susu skim dengan 0,6% fenol dan pH dikondisikan pada pH 2-3. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Kontrol yang digunakan adalah media MRS cair dengan susu skim 10%. 0,1 ml aliquot diambil setelah 4 jam lalu dibuat serial pengenceran, diinokulasikan ke media agar MRS molten dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Jumlah sel viable dihitung dalam cfu/ml.

Uji aktivitas bakteri yang akan diamati adalah kemampuan bakteri dalam menurunkan kadar kolesterol darah. Kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol darah ditunjukkan melalui aktivitas dari enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang dihasilkan bakteri. Metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi BSH adalah metode yang dikembangkan oleh Du Toit dkk (2003). Bakteri ditumbuhkan dalam media agar MRS yang ditambahkan 0,5% (b/v) taurodeoxycholic acid sodium salt dan 0,037% kalsium klorida. Kemudian media agar diinkubasi dalam kondisi anaerob pada suhu 37°C selama 3 hari. Terbentuknya zona presipitasi di sekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas BSH.

## BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengujian Parameter Keamanan *Lactobacillus plantarum*

#### 5.1.1 Uji sensitivitas *Lactobacillus plantarum* terhadap antibiotik

Uji sensitivitas *L.plantarum* terhadap antibiotik komersial dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Sensitivitas *L. plantarum* terhadap antibiotik

Antibiotik uji	Hasil Pengujian	
	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori (CLSI, 2006)
<i>Erythromycin</i>	28.85 ± 1.45	S
<i>Gentamicin</i>	9.0 ± 0.57	R
<i>Tetracycline</i>	29.7 ± 0,71	S
<i>Chloramphenicol</i>	21.55 ± 2.76	I

Keterangan : (S) Sensitif  
(I) Intermediet  
(R) Resisten

Bakteri asam laktat *L.plantarum* sensitif terhadap antibiotik Tetracycline dengan diameter zona hambat masing-masing adalah 29.7 mm. Pengujian sebelumnya dilakukan oleh Alfionita (2017) yang mendapatkan hasil bahwa bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* sensitive terhadap antibiotik tetrasiklin. Menurut Rice (2004), bakteri yang sensitif terhadap tetrasiklin menunjukkan bahwa bakteri tersebut masih memiliki sisi pengenalan target tetrasiklin. Tetrasiklin mempunyai spektrum antibiotik yang luas, sehingga efektif dalam penghambatan bakteri Gram positif maupun negatif. Tetrasiklin bekerja dengan inhibisi proses translasi di mana ribosom sel menghasilkan protein yaitu dengan mengikat ikatan subunit kecil 16S ribosom dari subunit 30s lalu menghambat amino-asetil tRNA dari mengikat ke tapak pengikatan pada ribosom. Ini menyebabkan proses sintesis bakteri gagal sehingga bakteri tidak mampu untuk berkembang.

Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa bakteri *L.plantarum* bersifat sensitif terhadap antibiotika eritromisin. Ini sesuai dengan Khan *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa *L.plantarum* merupakan bakteri golongan gram-positif yang

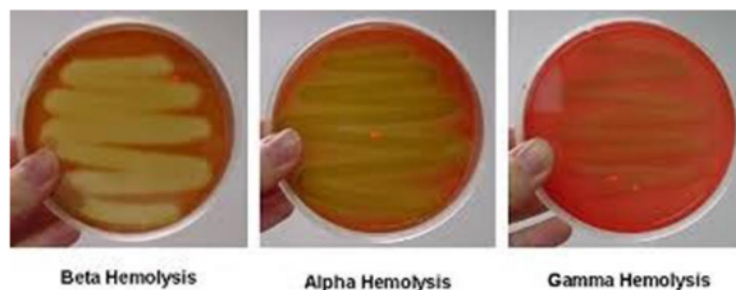
masih sensitif terhadap eritromisin. Pengujian sensitivitas antibiotik eritromisin pernah dilakukan oleh Hanna (2017) terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan mendapatkan hasil sensitif. Juaniastuti dkk (2015) mengatakan bahwa Eritromisin ditemukan pada tahun 1952 yang diisolasi dari *Streptomyces erythreus*. Aktivitas antibakteri erytromicin diutamakan untuk kuman Gram positif, termasuk yang resisten terhadap penicillin. Resistensi silang terjadi antar beberapa kelompok makrolid, namun tidak terhadap antibiotika lainnya.

Hasil uji menggunakan antibiotika klorampenikol menunjukkan hasil *L.plantarum* intermediet terhadap *Chloramphenicol*. Ida (2013) melakukan pengujian sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik Chloramphenicol dan mendapatkan hasil sensitif. Antibiotika berspektrum luas ini bekerja dengan menghambat proses sintesis protein yang terjadi pada sel bakteri. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50 S 18 sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom. Klorampenikol akan berikatan secara spesifik dengan akseptor (tempat ikatan awal dari aminoasil t-RNA) atau pada bagian peptidil yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida sehingga bakteri tidak mampu untuk melakukan proses vital untuk berkembang (Katzung 2000).

Hasil yang didapatkan bahwa *L.plantarum* resisten terhadap antibiotik gentamisin. Menurut penelitian yang pernah dilakukan oleh Ida (2013) Gentamisin sangat efektif pada penghambatan bakteri uji gram negatif dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Gentamisin adalah antibiotik aminaglikosida yang terdiri dari campuran komponen dan fraksi gentamisin. Antibiotik gentamisin digunakan untuk mengambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri Gram negatif. Gentamisin disintesis oleh *Micromonospora*, yaitu genus dari bakteri gram positif yang umumnya hidup pada lingkungan. Menurut Istiantoro dan Gan (2007), aktivitas antimikroba gentamisin tertuju pada basil gram negatif yang aerobik. Aktivitas terhadap mikroorganisme anaerobik rendah sekali. Aktivitas terhadap gram positif sangat terbatas. Pengaruh aminoglikosida adalah menghambat sintesis protein dan menyebabkan salah baca dalam penterjemahan mRNA bakteri.

### 5.1.2 Uji hemolisis pada agar darah

Uji hemolisis pada agar darah dilakukan untuk melihat aktivitas bakteri dalam merusak sel darah merah. Aktivitas hemolisis ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni bakteri. Terdapat 3 jenis aktivitas hemolisis, yaitu  $\alpha$ -hemolisis,  $\beta$ -hemolisis dan  $\gamma$ -hemolisis. Bakteri yang tergolong  $\alpha$  hemolitik adalah bakteri yang memiliki kemampuan parsial memecah sel darah merah pada media agar darah dan mengekspresikan zona kehijauan disekitar koloni. Alpha hemolisis disebabkan oleh oksidasi besi dalam hemoglobin, memberikan warna kehijauan pada agar darah. Alfa hemolisis juga mengacu pada lisis parsial/ lisis sebagian dari sel darah merah dan hemoglobin. Hal ini menghasilkan perubahan warna di sekitar koloni menjadi abu-abu kehijauan. Bakteri  $\beta$ -hemolitik adalah bakteri yang mengekspresikan zona bening disekitar koloni. Beta hemolisis juga merupakan lisis lengkap sel darah merah dan hemoglobin. Darah secara lengkap digunakan oleh mikroba. Media yang ada koloninya menjadi tidak berwarna. Bakteri gammahemolitik atau non hemolitik adalah bakteri yang tidak mampu melisis darah pada media agar. Bakteri non-hemolitik lebih bersifat virulen dibandingkan tipe  $\beta$ -hemolitik. Gamma hemolisis, yaitu tidak terjadi hemolisis, dimana tidak ada perubahan warna dalam medium. Jenis aktivitas hemolisis pada bakteri terlihat pada gambar 5.1.



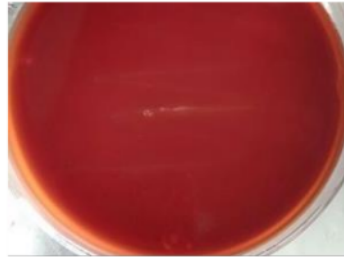
(sumber: <http://www.pinterest.com>)

Gambar 5.1 Jenis-jenis aktivitas hemolisis pada bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *L. plantarum* tidak menunjukkan aktivitas hemolisis, yang diamati melalui tidak terbentuknya zona bening di sekitar



koloni bakteri seperti terlihat pada gambar 5.2. Hal ini sudah sesuai dengan persyaratan bakteri sebagai probiotik.



Gambar 5.2 Pengujian aktivitas hemolisis pada *Lactobacillus plantarum*

## 5.2 Pengujian Parameter Ketahanan pada Saluran Pencernaan

### 5.2.1 Toleransi terhadap lisozim

Penelitian uji ketahanan bakteri terhadap lisozim dilakukan secara in vitro dengan waktu inkubasi 30 menit dan 120 menit, metode pengujian yang digunakan yaitu secara kuantitatif dimana bakteri yang telah dilakukan perlakuan dihitung menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Parameter respon yang diukur yaitu jumlah sel mikroba yang dapat tumbuh pada media simulasi cairan ludah (0,22 g CaCl<sub>2</sub>, 6,2 g NaCl, 2,2g KCl, 1,2 g NaHCO<sub>3</sub>). Hasil dari penelitian uji toleransi bakteri terhadap lisozim dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel.5.2 Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Lisozim

Bakteri Asam Laktat	Rata-rata jumlah sel ( $\log_{10}$ CFU/ml)			% Toleransi
	0 menit	30 menit	120 menit	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	11,00	10,65	9,41	88,32

Keterangan : Nilai % toleransi didapat dari data akhir dibagi data awal. Waktu ke 0 dijadikan perbandingan.

Berdasarkan hasil dari tabel 5.2 didapatkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* LP-01 memiliki % toleransi sebesar 88,32% sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki toleransi terhadap lisozim.

Jika dibandingkan dengan penelitian Mariam zago (2011) yang melakukan pengujian *Lactobacillus plantarum* dari beberapa strain yang berbeda-beda terhadap resistensi lisozim. Didapatkan hasil Lp 751 dengan % ketahanan 72,52 %, Lp 752 dengan % ketahanan 43,27 %, Lp 804 dengan % ketahanan 96,63 % dan Lp 998 dengan % ketahanan 70,11 %. Dapat disimpulkan bahwa *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 memiliki % toleransi yang baik, dengan % toleransi untuk *Lactobacillus plantarum* LP-01 sebesar 88,32% dan bakteri *Lactobacillus acidophilus* LA-01 sebesar 94,39%.

*L.plantarum* termasuk bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang sangat tebal, sehingga dapat betahan terhadap lisozim. Gilliland (1990) juga menyatakan bahwa bakteri gram positif lebih sensitif terhadap lisozim tetapi *Lactobacillus* dan *Streptococcus* lebih tahan terhadap bakteri gram positif lainnya.

Lisozim adalah suatu enzim penghidrolisis, lisozim termasuk suatu protein dengan berat molekul 14.600, yang terdiri atas 129 asam amino berbentuk rantai polipeptida tunggal, dengan empat ikatan silang. Lisozim mengandung antibiotik yang dapat menghancurkan beberapa bakteri, sehingga dapat membantu untuk mencegah terjadinya kerusakan yang dikarenakan oleh aktivitas bakteri (Idris, 1995).

Lisozim atau *nasetil neuramide glikan hidrolase*, suatu enzim penghidrolisis yang dapat membunuh kuman tertentu. Enzim ini ditemukan oleh Alexander Fleming (1921), Gugus aktifnya adalah dua gugus karboksil.  $\beta - 1,4$  Nac-N- Asetil yang melisis sel bakteri gram positif, namun spektrum lisis dari lisozim hanya terbatas bekerja terhadap gram positif (Melani, et al., 2013).

Beberapa bakteri gram positif sangat sensitif terhadap lisozim meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Bakteri gram negatif kurang rentan untuk diserang oleh lisozim karena peptidoglikannya dilindungi oleh membran luar. Sasaran pemecahan oleh lisozim adalah di ikatan 1,4 antara asam Nasetilmuramat dan N-asetilglukosamin (Tommie Prasetyo, 2009).

Evanikastr (2003) mengatakan bahwa syarat bakteri asam laktat untuk bersifat sebagai probiotik yaitu: (1) tahan terhadap asam, terutama asam lambung yang memiliki pH antar 1,5-2,0 sewaktu tidak makan dan pH 4,0-5,0 sehabis makan,

sehingga mampu bertahan dan hidup lama ketika melalui lambung dan usus, (2) stabil terhadap garam empedu dan mampu bertahan hidup selama berada pada bagian usus kecil. Empedu disekresikan ke dalam usus untuk membantu absorpsi lemak dan asam empedu yang terkonjugasi dan diserap dari usus kecil, (3) memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin, (4) mampu menempel pada sel usus manusia, faktor penempelan oleh probiotik merupakan syarat untuk pengkolonisasi, aktivitas antagonis terhadap patogen, pengaturan sistem daya tahan tubuh dan mempercepat penyembuhan infeksi, (5) tumbuh baik dan berkembang dalam saluran pencernaan, dan (6) aman digunakan.

Kemampuan BAL dalam probiotik selain dipengaruhi oleh strainnya juga dipengaruhi oleh jumlah populasinya. Hal ini berdasarkan pada fakta bahwa bakteri akan mampu menjalankan fungsinya apabila sudah memenuhi jumlah populasi minimal (quorum). Lingkungan pun menjadi faktor yang mempengaruhi dalam pertumbuhan mikroorganisme.

#### 5.2.2 Toleransi terhadap asam

Penelitian uji toleransi bakteri terhadap asam lambung dilakukan secara in vitro dengan waktu inkubasi 1 jam, 2 jam dan 3 jam, metode pengujian yang digunakan yaitu secara kuantitatif dimana bakteri yang telah dilakukan perlakuan dihitung menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Parameter respon yang diukur yaitu jumlah sel mikroba yang dapat tumbuh pada media simulasi cairan lambung. Hasil dari penelitian uji toleransi bakteri terhadap asam lambung dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Asam Lambung

Bakteri Asam Laktat	Rata-rata jumlah sel ( $\log_{10}$ CFU/ml)				% Toleransi
	0 jam	1 jam	2 jam	3 jam	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	13,75	13,55	13,42	13,24	97,71

Keterangan : Nilai % toleransi didapat dari data akhir dibagi data awal. Waktu ke 0 dijadikan perbandingan.

Berdasarkan hasil dari tabel 5.3 didapatkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki % toleransi sebesar 97,71% sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki toleransi terhadap asam lambung.

Jika dibandingkan dengan penelitian M,G Shehata (2016) yang melakukan pengujian *Lactobacillus* dari beberapa strain yang berbeda-beda terhadap resisten pada asam lambung, hasil pengujian pada penelitian ini menunjukkan persentase toleransi yang cukup tinggi. Pada penelitian Shehata (2016) didapatkan hasil Bo 3 dengan % ketahanan 76,2 %, Bo 35 dengan % ketahanan 88,3 %, RM 3 dengan % ketahanan 81,5 %, dan RM 28 dengan % ketahanan 68 %. Dapat disimpulkan bahwa *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 memiliki % toleransi yang baik, dengan % toleransi untuk *Lactobacillus plantarum* LP-01 sebesar 97,71 %.

Dari hasil pengamatan sesuai dengan pernyataan Triyana dan Nurhidayati (2007) dalam keadaan asam, *Lactobacillus* mampu mempertahankan kadar keasaman sitoplasmanya sehingga protein dan enzim yang berada didalam sel tetap dapat bekerja secara optimal. Karakter inilah yang menyebabkan *Lactobacillus* sangat ideal sebagai probiotik saluran pencernaan, karena salah satu persyaratan probiotik yang baik yaitu tahan terhadap keasaman hingga pH 2,0. Hal ini diperlukan bakteri probiotik harus tetap dapat hidup hingga disaluran pencernaan.

Kondisi keasaman lambung berfungsi sebagai pintu gerbang pertama untuk melakukan seleksi bakteri sebelum masuk ke usus. Toleransi terhadap pH asam salah satu syarat penting suatu bakteri asam laktat untuk dapat menjadi probiotik. Hal tersebut disebabkan bila *Lactobacillus plantarum* masuk kedalam saluran pencernaan maka *Lactobacillus plantarum* harus mampu bertahan dari pH asam lambung yang mempunyai pH sangat rendah antara 2-4. Dan dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 toleran terhadap pH asam lambung.

Saat kondisi puasa (kosong tanpa adanya makanan) pH lambung berkisar antara 1,0 - 2,0 (Wahyudi dan Samsundari, 2008). Pernyataan tersebut ditunjang

oleh Malorrry *et al* (1973), ketahanan terhadap asam lambung berkaitan dengan sifat probiotik yang penting untuk bertahan hidup didalam lambung. Supaya probiotik dapat bekerja secara efektif, perlu seleksi strain yang mampu bertahan pada kondisi asam.

Husoda *et al* (1996) menyatakan bahwa pada saluran pencernaan pH merupakan faktor yang sangat penting yang mendukung fungsi pencernaan. Perut mempunyai pH yang sangat rendah antara 2-4. Kondisi ini penting untuk pencernaan dan mampu membunuh bakteri pathogen dalam makanan. Pada saluran pencernaan pH meningkat secara bertahap sampai pada usus besar (kolon). Bakteri asam laktat lebih menyukai lingkungan asam, sedangkan kondisi basa lebih disukai oleh bakteri pembusuk. Menambahkan dari Holt *et al* (1994) apabila pH pada saluran pencernaan dalam kondisi asam, maka bakteri pathogen tidak dapat bertahan hidup sedangkan bakteri non pathogen dapat meningkatkan pertumbuhan.

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah nilai pH. Bakteri memerlukan suatu pH optimum (6,5 – 7,5) untuk tumbuh optimal. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan kativitas enzim. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu media atau lingkungan tidak optimal, maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut, yang pada akhirnya akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelzar dan Chan 1986).

Perubahan pH yang sangat ekstrim dapat menyebabkan terjadinya perubahan dalam aktivitas katalitik enzim. Perubahan ini terjadi karena adanya perubahan ionisasi pada gugus ionik enzim disisi aktifnya atau pada sisi lain yang secara tidak langsung mempengaruhi sisi aktif enzim tersebut. Perubahan pH menyebabkan sisi aktif enzim mengalami protonisasi atau deprotonisasi sehingga mempunyai muatan yang berbeda dengan kondisi awalnya. Terjadinya perubahan sisi aktif ini menyebabkan enzim berkurang aktivitasnya (Pelzar dan Chan 1986).

Beberapa penelitian membandingkan kemampuan baktri gram positif dan gram negative untuk bertahan pada kondisi ekstrim. Green *et al*. (2003) membandingkan antara *Salmonella thyphimurium* (gram negatif) dan *Listeria monocytogenes* (Gram positif). Kemampuan asam organik (asam asetat dan asam

laktat) untuk membunuh bakteri tergantung pada waktu adaptasi dan strain, strain *Salmonella thyphimurium* mempunyai waktu adaptasi yang lebih lama dibandingkan *Listeria monocytogenes*. Waktu adaptasi merupakan lama waktu dimana suatu bakteri mampu mempertahankan pH intraselulernya lebih tinggi daripada pH ekstraselulernya. Adaptasi suatu bakteri mempunyai keterbatasan, ketika bakteri tersebut melewati batas kritis dari adaptasi maka pertahanan bakteri tersebut akan lemah dan rentan terhadap efek dari asam.

Menurut Kitomo *et al* (1999) dalam Muhibbah (2010), menyatakan bahwa paparan pada kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler yang membuat hilangnya komponen – komponen intraseluler seperti Mg, K dan lemak dari sel, yang mampu menyebabkan kematian bakteri yang tidak tahan asam. Sedangkan bakteri tahan asam memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap kerusakan membrane akibat terjadinya penurunan pH ekstraseluler dengan bakteri yang tidak tahan terhadap asam. Menurut Bender dan Marquis (1987), ketahanan *Lactobacillus* pada pH rendah terjadi karena (1) kemampuannya dalam mempertahankan pH internal lebih tinggi dari pada pH eksternal, (2) mempunyai membran sel yang lebih tahan terhadap kebocoran sel akibat terpapar pH rendah.

### 5.2.3 Toleransi terhadap garam empedu

Penelitian uji toleransi bakteri terhadap asam lambung dilakukan secara *in vitro* dengan waktu inkubasi 1 jam, 2 jam dan 3 jam, metode pengujian yang digunakan yaitu secara kuantitatif dimana bakteri yang telah dilakukan perlakuan dihitung menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Parameter respon yang diukur yaitu jumlah sel mikroba yang dapat tumbuh pada media simulasi garam empedu. Hasil dari penelitian uji ketahanan bakteri terhadap garam empedu dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel.5.4 Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Garam Empedu

Bakteri Asam Laktat	Rata-rata jumlah sel ( $\log_{10}$ CFU/ml)				% Toleransi
	0 jam	1 jam	2 jam	3 jam	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	12,54	12,42	12,36	12,10	97,45

Keterangan : Nilai % ketahanan didapat dari data akhir dibagi data awal. Waktu ke 0 dijadikan perbandingan.

Berdasarkan hasil dari tabel 5.4 didapatkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki % toleransi sebesar 97,45% sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki toleransi terhadap garam empedu.

Dibandingkan dengan penelitian M,G Shehata (2016) yang melakukan pengujian *Lactobacillus* dari beberapa strain yang berbeda-beda terhadap resisten pada garam empedu. Didapatkan hasil Bo 3 dengan % ketahanan 75,6 %, Bo 35 dengan % ketahanan 71,3 %, RM 3 dengan % ketahanan 78,2%, dan RM 28 dengan % ketahanan 79,2 %. Dapat disimpulkan bahwa *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 memiliki % toleransi yang baik, dengan % toleransi untuk *Lactobacillus plantarum* sebesar 97,45 %.

Khanifah (2012) melakukan pengujian ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap garam empedu 0,3% (b/v). Didapatkan hasil rata-rata jumlah bakteri yang tumbuh sebesar  $1,2 \cdot 10^9$  CFU/ml dan mengalami kenaikan 1 log ( $10^1$ ). Penelitian ini menguji *Lactobacillus plantarum* mampu hidup dalam usus yang mengandung konsentrasi garam empedu 0,3 (b/v), ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap garam empedu menjadi syarat penting untuk probiotik seperti halnya ketahanan terhadap lisozim dan asam lambung. Konsentrasi garam empedu 0,3% merupakan konsentrasi yang kritis nilai cukup tinggi untuk menyeleksi bakteri yang resisten terhadap garam empedu (Gilliland, *et al.*, 1984).

Cairan empedu merupakan campuran dari asam empedu, kolesterol, asam lemak, fosfolipid dan pigmen empedu. Sekresi pankreas juga mengandung serangkaian enzim pencernaan. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikroorganisme dalam tubuh manusia dan hewan kecuali beberapa genus penghuni

usus yang tahan terhadap garam empedu. Empedu sebagian besar adalah hasil dari excretory dan sebagian adalah sekresi dari pencernaan. Garam-garam empedu termasuk ke dalam kelompok garam natrium dan kalium dari asam empedu yang berkonjugasi dengan glisin atau taurin suatu derivat atau turunan dari sistin, mempunyai peranan sebagai pengemulsi, penghancuran dari molekul-molekul besar lemak menjadi suspensi dari lemak dengan diameter  $\pm 1\mu\text{m}$  dan absorpsi dari lemak, tergantung dari sistem pencernaannya. Terutama setelah garam-garam empedu bergabung dengan lemak dan membentuk Micelles (agregat dari asam lemak, kolesterol dan monogliserida), kompleks yang larut dalam air sehingga lemak dapat lebih mudah terserap dalam sistem pencernaan (efek hidrotrofik). Kolesterol larut dalam empedu karena adanya garam-garam empedu dan lesitin.

Ketahanan terhadap garam empedu merupakan persyaratan suatu isolat BAL untuk dapat membentuk koloni dan melakukan aktivitas metabolisme pada inang (Havenaar *et al.*, 1992) ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu berkaitan dengan enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang membantu menghidrolisa garam empedu terkonjugasi.

Menurut Bezkoroviany (2006), halangan yang paling serius bagi ketahanan probiotik pada usus halus adalah garam empedu. Studi resistensi probiotik pada garam empedu secara *in vitro* dapat dibagi menjadi dua tipe yaitu studi ketahanan dan pertumbuhan. Studi ketahanan pada *Lactobacillus plantarum* dan *Bifidobacterium* pada konsentrasi 0 -1,5% selama kurang dari 3 jam karena *Lactobacillus* kebanyakan lebih tahan dari pada *Bifidobacterium*, konsentrasi yang digunakan untuk *Lactobacillus* lebih tinggi sekitar 0,3% Oxgall. Menurut Du Toit *et al* (1999), ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu berkaitan dengan enzim *bile salt hidrolase* (BSH) yang membantu menghidrolisa garam empedu terkonjugasi, sehingga mengurangi efek racun bagi sel.

Beberapa jenis BAL mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu yang lebih tinggi dari pada 0,3%. Garam empedu mulai disekresi dari pH 4 karena pH tersebut mulai terjadi pencernaan lemak diduodenum dengan enzim lipase yang diemulsikan dengan garam empedu dan lesitin.



Gilliland *et al* (1984) melaporkan bahwa *Lactobacilli* yang paling bersifat resisten terhadap garam empedu yang terdapat pada bagian atas usus halus (jejunum). Hal ini juga ditunjukkan oleh Yun dan Tsen (1993) dan Drouault *et al* (1999), yang menyatakan bahwa jumlah BAL yang terdapat di jejunum lebih rendah dari pada di ileum, caecum dan kolon (usus besar). Hal ini disebabkan konsentrasi garam empedu pada bagian jejunum paling tinggi dari pada ileum, karena lokasinya paling dekat bila garam empedu masuk kedalam saluran usus.

Toleransi *Lactobacillus plantarum* terhadap garam empedu, usus halus dan kolon mengandung asam empedu yang relative tinggi dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh sebagian besar bakteri. Bakteri asam laktat yang akan diuji potensi probiotik harus mampu tumbuh pada 0,3%-0,5% agar oxgall (Wahyudi dan Samsundari, 2008).

Adanya toleransi terhadap garam empedu tersebut diduga disebabkan oleh peranan polisakarida sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel bakteri gram positif (Astuti dan Rahmawati 2010). Karena sel bakteri *Lactobacillus plantarum* pada penelitian ini mampu tahan dalam garam empedu sehingga bakteri tersebut berpotensi sebagai kandidat probiotik.

### **5.3 Pengujian aktivitas antimikroba**

#### **5.3.1 Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi agar**

Uji aktivitas antimikroba pada bakteri asam laktat dengan menggunakan supernatan bebas sel *L.plantarum* terhadap mikroba uji didapatkan hasil pengujian seperti pada Tabel 5.5.

Berdasarkan Tabel 5.5 dapat diketahui bahwa supernatan bakteri asam laktat *L.plantarum* dapat menghambat aktivitas bakteri patogen. Supernatan *L. plantarum* menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap kelima mikroba uji dengan menggunakan kontrol positif antibiotik Gentamisin. Hasil pengukuran zona hambat menunjukan bahwa jenis mikroba uji yang berbeda berpengaruh terhadap zona bening yang dihasilkan oleh supernatan.

Tabel 5.5. Diameter Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap mikroba Uji

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhy</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C.albicans</i>
Supernatan <i>L.plantarum</i>	8.025 ± 0.1	8.65 ± 0.6	9.325 ± 1.4	9.6 ± 0.5	-
Gentamisin	14.95	17.75	19.55	19.05	-

Hasil yang didapatkan dari supernatan *L.plantarum* berbeda dengan yang dihasilkan oleh antibiotik Gentamisin sebagai kontrol positif. Zona hambat yang dihasilkan supernatan *L.plantarum* dan zona hambat antibiotik memiliki perbedaan, dimana hasil penghambatan oleh antibiotik memiliki diameter yang lebih besar. Antibiotik didefinisikan sebagai zat yang memiliki kemampuan untuk melumpuhkan atau mematikan mikroorganisme lain. Sedangkan antimikroba pada *L.plantarum* merupakan senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Dalam supernatan *L.plantarum* senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba adalah asam organik, hydrogen peroksida, dan bakteriosin.

Target utama zat antimikroba yang dihasilkan bakteri asam laktat adalah membran sitoplasma. Bakteriosin menginisiasi reaksi yang mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transpor membran atau menghilangkan proton motive force (PMF) sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat (Nissen-Meyer et al., 1992).

Zona bening terbesar dihasilkan bakteriosin *L.plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 9,60 mm. Pengujian aktivitas antimikroba dari supernatan *L.plantarum* dan *L.acidophilus* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* sebelumnya pernah dilakukan oleh Noni (2017) mendapatkan hasil masing-masing 8,08 mm dan 6,92 mm.

Wiryawan dan Tjakradidjaja (2001) menyatakan bahwa bakteriosin dapat menghambat perkembangan bakteri patogen yang mempunyai kekerabatan dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin. Menurut Klaenhammer (1998) bakteriosin

dari Gram positif efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif tetapi tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Umumnya bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dibanding Gram positif (Usmiati *et al.*, 2009). *Staphylococcus aureus* tumbuh optimum pada pH 4,0 – 8,0 yang menunjukkan seharusnya pada supernatan *L.plantarum* yang memiliki pH 4,0 – 5,0 *Staphylococcus aureus* masih dapat bertahan, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan dipengaruhi pula oleh senyawa antimikroba lain dari supernatan *L.plantarum* diantaranya kerja bakteriosin.

Sama halnya dengan *Staphylococcus aureus*, penghambatan pun terjadi pada mikroba uji *Bacillus subtilis*. Seperti diketahui bahwa *Bacillus subtilis* termasuk golongan bakteri gram positif. Soesanto 2008 mengatakan bakteri *Bacillus subtilis* dapat bertahan pada kondisi lingkungan tertentu yaitu dapat bertahan hidup pada suhu -5 sampai 75 °C, dengan tingkat keasaman antara pH 2,0 – 8,0.

Penghambatan terhadap bakteri Gram positif disebabkan oleh senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri *L.plantarum*. Bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram negatif karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang berlapis-lapis, yaitu lipopolisakarida, peptidoglikan dan lipoprotein. Pada lapisan lipopolisakarida tersebut Gram negatif memiliki sistem seleksi (*screening*) terhadap zat-zat asing (Branen dan Davidson, 1993). Bakteri Gram negatif umumnya lebih sensitif terhadap 57 senyawa antimikroba yang bersifat polar karena dinding sel bakteri Gram negatif bersifat polar sehingga lebih mudah dilewati oleh senyawa antimikroba yang bersifat polar. Sebaliknya dari bakteri Gram negatif, bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antimikroba yang bersifat non polar. Kesensitifan bakteri Gram positif terhadap senyawa antimikroba yang bersifat non polar disebabkan komponen terbesar penyusun dinding sel bakteri Gram positif adalah peptidoglikan yang salah satu penyusunnya adalah asam amino alanin yang bersifat hidrofobik/non polar. Hal inilah yang menyebabkan dinding sel bakteri

Gram positif menjadi lebih mudah dilewati dan diserang oleh senyawa antimikroba yang bersifat non polar.

Aktivitas antimikroba *L.plantarum* terhadap mikroba uji *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* tergolong kuat. Selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Ade (2012) aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh supernatant *L.plantarum* terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* didapatkan diameter masing-masing 9,02 mm dan 9,34 mm. Hal ini membuktikan bahwa *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dari golongan Gram negatif yang sesuai dengan pernyataan Ogunbanwo et al. (2003) bahwa bakteriosin tidak saja menghambat spesies yang secara filogenik dekat tetapi juga mampu menghambat bakteri Gram negatif dan tergantung pada perbedaan jenis dinding sel bakteri yang dihambat, yang berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikroba, karena perbedaan struktur dinding selnya.

Dalam hal ini penghambatan dapat terjadi karena senyawa antimikrobia yang dihasilkan dapat menembus membran terluar dari bakteri Gram negatif. Menurut Alakomi et al. (2006) membran terluar dari bakteri gram negatif bertindak sebagai pelindung dengan adanya lipopolisakarida yang menyebabkan resistensi sel dari berbagai macam zat, namun membrane terluar dari bakteri gram negatif ini masih mungkin dapat ditembus oleh senyawa lain yang disebut permeabilizer yang dapat menghancurkan lapisan lipopolisakarida dan meningkatkan permeabilitas membran terluar bakteri gram negatif. Salah satu zat yang dapat menembus periplasma membran terluar dari bakteri gram negatif adalah asam laktat.

Aktivitas antimikroba yang dihasilkan dari *L.plantarum* tidak jauh berbeda. Menurut Ness et al. (2007), akhir-akhir ini sejumlah besar bakteriosin baru yang berasal dari bakteri asam laktat telah dikarakterisasi. Kebanyakan bakteriosin bakteri asam laktat termasuk *L.plantarum* tergolong dalam bakteriosin kelas II yang memiliki sifat-sifat seperti : kecil (30-100 asam amino), tahan panas, dan umumnya dimodifikasi sebelum translasi. Bakteriosin yang dihasilkan bakteri gram positif seperti BAL bersifat peptida kecil dan berukuran 3-6 kDa. Kebanyakan bakteri penghasil bakteriosin hanya mensintesis satu bakteriosin, tetapi beberapa BAL menghasilkan lebih (2-3 bakteriosin).

Mikroba uji *Candida albicans* resisten terhadap antimikroba yang dihasilkan oleh *L.plantarum*, ditandai dengan tidak adanya zona hambat yang erbentuk disekitaran kertas cakram. Antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat efektif menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak dengan ragi. Salah satu penyebabnya adalah strukturnya yang kompleks. *Candida* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada septasi-septasi diantara sel (Maria, 2009).

Menurut *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO) tahun 2001, idealnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus manusia, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, dan mampu menghasilkan zat antimikroba.

5.3.2 Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode mikrodilusi (Penentuan nilai *Minimum Inhibitory Concentration & Minimum Bactericidal Concentration*)

Penentuan nilai MIC dan MBC suatu antimikroba dengan menggunakan teknik mikrodilusi. Parameter sensitivitasnya dapat dilihat dari tingkat kejernihan dengan hasil didapatkan adalah *Minimum Inhibitory Concentration* yaitu kadar minimum antimikroba sebagai bakteriostatik dan *Minimum Bactericidal Concentration* yaitu kadar minimum suatu antimikroba sebagai bakterisida. Dari metode mikrodilusi maka didapatkan hasil pengamatan visual pada lampiran 5. Sebagai konfirmasi, pengujian dilakukan dengan menanamkan larutan dalam sumur *Microplate* yang diindikasikan sebagai nilai MIC pada media agar, sehingga didapatkan nilai MIC dan MBC yang disajikan pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6. Nilai MIC dan MBC Bakteri Asam Laktat terhadap mikroba uji

Sampel	<i>B.subtilis</i>		<i>E.coli</i>		<i>S.typhy</i>		<i>C.albicans</i>		<i>S.aureus</i>	
	MIC (%)	MBC (%)	MIC (%)	MBC (%)	MIC (%)	MBC (%)	MIC (%)	MBC (%)	MIC (%)	MBC (%)
Supernatan <i>L.plantarum</i>	10	20	10	20	50	60	70	80	50	60

Data yang diperoleh dari Tabel 5.6 menunjukkan nilai MIC dan MBC yang dihasilkan supernatan bakteri asam laktat terhadap bakteri uji. Supernatan *L.plantarum* menghambat pertumbuhan dari bakteri Gram positif dengan konsentrasi beragam, konsentrasi terendah dalam menghambat dan membunuh mikroorganisme terjadi pada penghambatan terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Penghambatan antimikroba yang dihasilkan oleh supernatan *L.plantarum* terhadap bakteri Gram positif terjadi akibat adanya aktivitas bakteriosin yang lebih baik menyerang bakteri dari golongan yang sama.

Bakteri *Salmonella typhy* dan *Escherichia coli* pun sensitif terhadap supernatan *L.plantarum*, hal ini dibuktikan dengan pada konsentrasi 10% supernatan telah mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan pada konsentrasi 20% telah mati. Hal tersebut diakibatkan antimikroba yang dihasilkan mampu menembus dinding dari bakteri Gram negatif, antimikroba yang paling berperan dalam penghambatan bakteri Gram negatif adalah asam yang dihasilkan. Penentuan nilai MIC dilakukan oleh Triana (2010) dari bakteriosin plantarisin terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Salmonella typhy* mendapatkan hasil masing-masing 90% dan 91,53%, hal tersebut dikarenakan penghambatan dilakukan hanya oleh bakteriosin tanpa adanya bantuan dari asam.

Aktivitas antimikroba kurang baik pada penghambatan mikroba uji *Candida albicans*, hal ini disebabkan kurangnya kemampuan senyawa antimikroba yang dihasilkan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan sel ragi.

Nilai MIC dan MBC yang semakin rendah menunjukkan semakin kuat penghambatan supernatan bakteri asam laktat tersebut terhadap bakteri indikator.

Nilai MIC dan MBC yang lebih rendah juga dapat disebabkan sifat bakteri indikator yang lebih sensitif terhadap antimikroba yang dihasilkan.

Penelitian uji aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase* dilakukan secara in vitro dengan analisis berupa data kualitatif, yang menunjukkan ada atau tidaknya aktivitas enzim *bile salt hydrolase* dari bakteri asam laktat. Jika terdapat enzim *bile salt hydrolase* terbentuk zona pengendapan disekitar koloni, apabila tidak terdapat enzim *bile salt hydrolase* tidak terbentuk zona pengendapan disekitar koloni. Pengukuran luas endapan dihitung menggunakan jangka sorong. Hasil dari penelitian uji aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase* dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil pengujian aktivitas enzim bile salt hydrolase pada *Lactobacillus plantarum*

Berdasarkan hasil dari gambar 5.3 didapatkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* memiliki aktivitas enzim *bile salt hidrolase*. *Bile Salt Hydrolase* (BSH), yaitu enzim yang dapat mendekongugasi garam empedu. Probiotik memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolise* (BSH) yang dapat mendekongugasi garam empedu. BSH mengakibatkan empedu terkonyugasi dan dibuang melalui feses bersama-sama kolesterol sehingga menyebabkan kadar kolesterol berkurang (Sunarlim, 2009).

Enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) akan memberikan keuntungan khusus bagi strain bakteri probiotik yang tumbuh pada lingkungan yang penuh persaingan dalam saluran pencernaan dengan memberikan daya tahan yang lebih baik terhadap garam empedu, serta membantu dalam menurunkan kadar kolesterol darah. *Bile Salt Hydrolase* dimiliki oleh beberapa strain bakteri saluran pencernaan seperti *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, dan *Bacteroides*.

Pemberian *Lactobacillus* untuk menurunkan kadar kolesterol dapat melalui beberapa mekanisme. Menurut (Lee et al, 2009), terdapat beberapa mekanisme penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL. Mekanisme pertama yaitu produk hasil fermentasi oleh BAL menghambat sintesis kolesterol sehingga menurunkan produksi kolesterol. Mekanisme kedua adalah penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL yang dibantu oleh enzim BSH yang mendekongugasi garam empedu, di mana glisin atau taurin dipisahkan dari steroid sehingga menghasilkan garam empedu bebas atau terdekongugasi. Enzim BSH menghasilkan garam empedu terdekongugasi dalam bentuk asam kolat bebas yang kurang diserap oleh usus halus. Dengan demikian, garam empedu yang kembali ke hati selama sirkulasi enterohepatik menjadi berkurang sehingga total kolesterol dalam tubuh menjadi berkurang. Mekanisme ketiga adalah kemampuan BAL untuk mengikat kolesterol sehingga mencegah penyerapan kolesterol kembali ke hati (Lee, et al, 2009). Beberapa jenis BAL memiliki dinding sel yang mampu mengikat kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh (Surono, 2004).



## BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

1. *L. plantarum* dapat digunakan sebagai probiotik karena memenuhi kriteria aman (sensitif terhadap antibiotik dan tidak menyebabkan hemolisis)
2. *L. plantarum* dapat digunakan sebagai probiotik karena memenuhi kriteria tahan dalam saluran pencernaan (toleran terhadap lisozim, asam lambung dan garam empedu, dengan % toleransi berturut-turut 88,32; 97,71; dan 97,45)
3. *L. plantarum* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, namun Aktivitas antimikroba sangat lemah dalam menghambat ragi *Candida albicans*.
4. *L. plantarum* memiliki aktivitas enzim *bile salt hydrolase*

### 6.2 Saran

1. Perlu dilakukan analisis in vivo pada hewan percobaan untuk membuktikan bahwa probiotik memberikan efek penurunan kolesterol.
2. Perlu dilakukan pengujian parameter lain untuk membuktikan bahwa *L. plantarum* dapat digunakan sebagai probiotik yaitu kemampuan bakteri menempel pada usus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, Noni dkk. 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. Universitas Riau. Riau.
- Alakomi H-L, Skytta E, Saarela M et al., 2000. Lactic acid permeabilizes gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. Applied and Environmental Microbiology.
- Aly, S., Cheik, O.A.T., Imael, B.H., Traore, N., & Alfred, S. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria minireview. *Afr. J. Biotechnol.*
- Alfionita, Arif. 2017. Uji Sensitivitas Ampisilin, Imipenem, dan tetrasiklin Terhadap *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Peranakan Etawa Asal Kabupaten Polewali Mandar. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Bhunia A. K., M. C Johnson, and B. Ray. 1988. Purification and Characterization Antimicrobial Spectrum of Bacteriocin Produced by *Pediococcus acidilactici*, J. appl. Bacteriol.
- Branen, L.A and P.M. Davidson. 1993. Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker., Inc. New York.
- Davidson, P. M. and A. L. Branen. 1993. *Antimicrobial in Food*. 2<sup>nd</sup> Edition. Revised and Expanded. Marcel Dekker Inc. New York.
- Desniar, R. Iman, A. Suwanto, NR. Mubarik. 2016. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Bekasam. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.
- Druider D, Fimland G, Hechard Y, McMullen, dan H. Prevost. The continuing story of class Ia bacteriosins. Microbiology and molecular Biology: Reviews. 2006.
- Earnshaw, R. G. 1996. The Antimicrobial Action of Lactic Acid Bacteria: Natural Food Preservation System. In : Wood, B.J.B (ed). *The Lactic Acid Bacteria Vol. 2 in Health and Disease*. London: Blackie Academic and Professional.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fraizer, W.C. & O. C. Westhoff. 1988. Food Microbiology. 4<sup>th</sup> ed. McGraw Hill Book Co. Singapore.
- Fauziawan, Ade. 2012. Aplikasi Bakteriosin Dari *Lactobacillus plantarum* 2C12 Sebagai Bahan Pengawet Pada Produk Bakso. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Gan V. S. H., dan Istiantoro, Y. H., 2007. Penisilin, Sefalosporin dan ANTibiotik Betalaktam.
- Gunawan, S. G. Setiabudy, R., Nafrialdi. Dan Elysabeth., Farmakologi dan Terapi. Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Harmayani, E., Ngatirah, E.S. Rahayu, dan T. Utami 2001. Ketahanan dan viabilitas probiotik bakteri asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan spray drying. *Jurnal Teknologi dan Indistro Pangan*.
- Indrawati, Ida. Uji Sensitivitas Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Air Rebusan Cacing Tanah *Lumbricus Rubellus* dan *Pheretima Asiatica* dan Antibiotik secara In Vitro. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Jenie, BSL. 1997. Peranan Bakteri Asam Laktat Sebagai Pengawet Hayati Makanan (*Food Biopreservatives*). Ulasan Ilmiah. Jurnal Ilmu dan Tekonologi Pangan.
- Johnston, B.C., Ma, S. S., Goldenberg, J.Z., Thorlund, K., Vandvik, P.O., Loeb, M., & Guyatt, G.H. 2012. *Probiotik for the prevention of Clostridium difficile associated diarrhea*. Ann Intern Med.
- Klaenhammer, T. R. 1998. Bacteriosin of Lactic Acid Bacteria. Biochemistry 70.
- Napitupulu, N., T. Yulinery, dan R. Hardiningsih. 2000. Pengaruh Lama Penyimpanan, Suhu dan Media terhadap Kemampuan Antibakteri yang dihasilkan *Lactobacillus* dalam Menghambat Pertumbuhan Beberapa Bakteri Patogen. Bogor: Proyek Penelitian Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat, Pusat Penelitian Biologi LIPI.
- Neetles, C. G. and Barefoot, S.F., 1993. Biochemical and Genetic Characteristic of Bacteriosin of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. *J. Food Prot.*
- Ness IF. Diep DB, Holo H. 2007. Bacteriocin Diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus J of Bact.*
- Nester, Eugene W, Anderson. Dennis G, Roberts. C Evans Jr, Nester, Martha T. 2009. *Microbiology a Human Perspective 6<sup>th</sup> Edition*. McGraw-Hill. New York.
- Nissen-Meyer, J., Holo, H., Harvarstein, L. S., Sletten, K. and Nes, . F. 1992. A Novel Lactococcal Bacteriocin Whose activity depends on the complementary action of two peptides. *J. Bacteriol.*
- Orgunbanwo, S.T., Sanni, A.I., & Onilude, A.A. 2003. Characterization of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J. Biotechnol.*

- Ouwehand, A.C. 1998. Antimicrobial component from Lactic Acid Bacteria. New York: Marcell Dekker.
- Pan, X., F. Chen, T. Wu, H. Tang, & Z.Zhao. 2009. The Acid Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* IT. J. Food Control.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Terjemahan Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pollack, David. 2003. *Salmonella enterica typhi*. <http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Studentpresentations/Salmonellatyphi/Salmonellatyphi.html>.
- Pratiwi, S. T., 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Ray, B. 1996. *Lactic Acid Bacteria : Current Advances in Metabolism, Genetic, and Application*, Springer-Verlag. Germany.
- Ray, B.K. W. Miller & M. K. Jain. 2001. Bacteriocins of lactic acid bacteria : current prospective. Int. J. Microbiol.
- Ray, B. 2003. Fundamental Food Microbiology. 3<sup>th</sup> ed. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Schnell, N. K.D. Entian, U. Schneider, F. Gots, H. Zahner, R. Kellner, and G. Jung. 1998. Prepeptida sequence of epidermin, a ribosomally synthesized antibiotik with four su:phide Ring. Nature.
- Septiani, Indri. 2012. Nilai Penghambatan Terkecil Plantarisin Empat Galur *Lactobacillus plantarum* terhadap Bakteri Patogen Gram Negatif. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Shofiana, Hanna. 2017. Sensitivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Isolat Dari Susus Mastitis Terhadap Antibiotika. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Simatupang, Maria Magdalena. 2009. *Candida albicans*. Sumatera Utara: Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU.
- Smith, Keary P., F. 1988. Genetic Elements in *Escherichia coli*. Macmillan Molecular biology series. London.
- Widyastuti, Yantyanti dan Eva Sofarianawati. 1999. Karakter Bakteri Asam Laktat dalam Susu Kuda Liar Bima Selama Penyimpanan. Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PIT-PERMI 2006) Tingkat Nasional. Solo, Jawa Tengah.



**BUKTI PEMBAYARAN**

**TELAH TERIMA DARI**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS PASUNDAN**

**UNTUK PEMBAYARAN TAHAP I (60%) HIBAH PENELITIAN TAHUN 2018/2019**

**JUDUL: "SKRINING DAN UJI AKTIVITAS LACTOBACILLUS PLANTARUM SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK"**

**BANDUNG, 24 APRIL 2018**

**RP. 4.800.000**

  
**(ISTYATI INAYAH, S.SI., M.SI.)**





**UNIVERSITAS PASUNDAN**  
*Fakultas Teknik*

Teknik Industri  022 - 2019335  
Teknologi Pangan  022 - 2019339  
Teknik Mesin  022 - 2019352  
Teknik Informatika  022 - 2019371  
Teknik Lingkungan  022 - 2009574  
Teknik Planologi  022 - 2006466

**SURAT PERJANJIAN  
PENUGASAN PELAKSANAAN HIBAH  
PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS PASUNDAN TAHUN 2018/2019**  
Nomor : 948/Unpas-FT.D/N/IV/2018

Pada hari ini, **Selasa** tanggal **Dua Puluh Empat** bulan **April** tahun **Dua Ribu Delapan Belas**, Kami yang bertanda tangan di bawah ini:

1. **Dr. IR. YUSMAN TAUFIK, M.P.** : Bertindak selaku Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan, berkedudukan di Jl. Dr. Setiabudhi No. 193 Bandung dan selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.
2. **ISTİYATI INAYAH, S.SI., M.SI.** : Bertindak selaku Ketua Tim **Penelitian** dan Tenaga Pendidik Jurusan **Teknologi Pangan** di Fakultas Teknik Universitas Pasundan, berkedudukan di Jl. Dr. Setiabudhi No. 193 Bandung dan selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

Berdasarkan kepada:

1. Undang-undang Republik Indonesia No. 44 Tahun 2015 tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi;
2. Surat Keputusan Rektor Universitas Pasundan No. 70/Unpas.R/SK/C/IV/2017 Tentang Pergantian Antar Waktu Dekan Definitif Masa Bakti 2017 – 2018 dan Penetapan Pejabat Sementara (PJS) Wakil Dekan I Fakultas Teknik Universitas Pasundan;
3. Surat Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan No. 800/Unpas-FT.D/N/III/2018 Tentang Pemberitahuan Penerima Hibah Penelitian dan PPM (Internal) di Fakultas Teknik Tahun Anggaran 2018/2019
4. Surat Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan No. 946/Unpas-FT.D/N/IV/2018 Tentang Pemberitahuan Penerima Hibah Penelitian dan PPM (Internal) di Fakultas Teknik Tahun Anggaran 2018/2019 (Lanjutan)

**PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** secara bersama-sama bersepakat mengikatkan diri dalam suatu Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penugasan Program Penelitian dan Pengabdian Masyarakat dengan syarat dan ketentuan yang diatur dalam pasal-pasal sebagai berikut :

**PASAL 1**

- (1) **PIHAK PERTAMA** memberi tugas kepada **PIHAK KEDUA**, dan **PIHAK KEDUA** menerima tugas sebagai pelaksana dan penanggung jawab pelaksanaan kegiatan **Penelitian** yang dilakukan di Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung, dengan

judul "Skrining dan Uji Aktivitas *Lactobacillus plantarum* sebagai Kandidat Probiotik";

- (2) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab penuh atas pelaksanaan, administrasi dan keuangan atas pekerjaan sebagai dimaksud pada ayat (1);
- (3) Pelaksanaan Hibah Penugasan Program Penelitian dan Pengabdian Masyarakat sebagaimana dimaksud pada ayat (1), sebanyak 1 (satu) judul berdasarkan data yang di *upload* dan tidak dibiayai oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi.

#### PASAL 2

- (1) **PIHAK PERTAMA** menghibahkan dana untuk kegiatan sebagaimana dimaksud pada pasal 1 sebesar **Rp. 8,000,000** yang dibebankan kepada anggaran keuangan Fakultas Teknik Tahun 2018/2019;
- (2) Dana hibah pelaksanaan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibayarkan **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut :
  - a) Pembayaran tahap pertama sebesar 60% (enam puluh persen) atau setara dengan nilai **Rp. 4,800,000** dibayarkan setelah perjanjian ini ditandatangani oleh kedua belah pihak;
  - b) Pembayaran tahap kedua sebesar 20% (dua puluh persen) atau setara dengan nilai **Rp. 1,600,000** dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan Dokumen Laporan Kemajuan Pelaksanaan Hibah Penelitian dan salinan Laporan Penggunaan Keuangan 60% (enam puluh persen) yang telah dilaksanakan, serta Salinan Berita Acara Serah Terima Laporan Kemajuan Pelaksanaan dan Salinan Berita Acara Serah Terima Laporan Penggunaan Keuangan 60% (enam puluh persen), pada bulan **September 2018**;
  - c) Pembayaran tahap ketiga sebesar 20% (dua puluh persen) atau setara dengan nilai **Rp. 1,600,000** dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan Dokumen Laporan Akhir Pelaksanaan Hibah Penelitian dan salinan Laporan Penggunaan Keuangan 80% (delapan puluh persen) yang telah dilaksanakan, serta Salinan Berita Acara Serah Terima Laporan Akhir Pelaksanaan dan Salinan Berita Acara Serah Terima Laporan Penggunaan Keuangan 80% (delapan puluh persen), pada bulan **Februari 2019**;
  - d) **PIHAK PERTAMA** wajib menyimpan seluruh Laporan Pelaksanaan Hibah Penugasan Program Penelitian, Laporan Penggunaan Keuangan 60%, 80% dan 100%, Berita Acara Serah Terima Laporan Pelaksanaan Hibah Penelitian dan Berita Acara Serah Terima Laporan Penggunaan Keuangan 60%, 80% dan 100%;
  - e) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab mutlak dalam pembelanjaan dana tersebut pada ayat (1) dan berkewajiban untuk menyimpan semua bukti-bukti pengeluaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA**.

#### PASAL 3

- (1) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab penuh atas pelaksanaan kegiatan Penelitian termasuk mobilisasi anggota tim pelaksanaanya dengan identitas anggota sebagai berikut : (1) Nama : x Jurusan : x; dan (2) Nama : x Jurusan : x;



- (2) **PIHAK KEDUA** bertanggung jawab penuh atas data administrasi peneliti penerima dana Hibah;
- (3) **PIHAK KEDUA** mengupayakan hasil Penelitiannya untuk memperoleh paten dan/atau publikasi ilmiah dalam jurnal nasional terakreditasi/internasional terindeks *scopus* (minimum diseminarkan dalam kegiatan ilmiah skala nasional atau menyusun *roadmap* Penelitian agar dapat dibiayai hibah pihak Kemenristekdikti atau pihak eksternal lainnya) dan/atau teknologi tepat guna atau rekayasa sosial dan/atau buku ajar untuk setiap judul-judul Penelitian sebagaimana dimaksud Pasal 1 ayat (2);
- (4) Perolehan-perolehan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk pelaksanaan Tridharma Perguruan Tinggi;
- (5) **PIHAK KEDUA** berkewajiban melaporkan perkembangan perolehan paten dan/atau publikasi ilmiah dalam jurnal nasional terakreditasi/internasional terindeks *scopus* (minimum diseminarkan dalam kegiatan ilmiah skala nasional atau menyusun *roadmap* Penelitian agar dapat dibiayai hibah pihak Kemenristekdikti atau pihak eksternal lainnya) dan/atau teknologi tepat guna atau rekayasa sosial dan/atau buku ajar seperti yang dimaksud pada ayat (3) secara berkala kepada **PIHAK PERTAMA** selambat-lambatnya pada setiap kegiatan monitoring dan evaluasi.

#### PASAL 4

- (1) **PIHAK KEDUA** harus menyampaikan surat pernyataan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan dengan menyertakan "*softcopy*" Laporan Data Akhir Hasil Penelitian dengan nama file "**ISTİYATI INAYAH, S.SI., M.SI. 2018\_Skrining dan Uji Aktivitas Lactobacillus plantarum sebagai Kandidat Probiotik\_Teknologi Pangan.pdf**" ke Ketua Lembaga Penelitian FT-Unpas sebagaimana dimaksud pada pasal 1 selambat-lambatnya pada akhir bulan **Februari 2019**. Demikian pula Laporan "*hardcopy*" hasil Penelitian diserahkan kepada **PIHAK PERTAMA**;
- (2) Apabila batas waktu habisnya masa Penelitian ini **PIHAK KEDUA** belum menyerahkan Surat Pernyataan telah menyelesaikan hasil pekerjaan seluruhnya kepada **PIHAK PERTAMA**, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan denda sebesar 1%/mil (satu persen per mil) setiap hari keterlambatan sampai dengan setinggi-tingginya 5%/mil (lima persen per mil) dari nilai yang disebutkan pada Pasal 2 Ayat (1), terhitung dari tanggal jatuh tempo yang telah ditetapkan sampai dengan berakhirnya pembayaran dana Hibah Penelitian dan Pengabdian Masyarakat oleh Fakultas Teknik;
- (3) Denda yang dimaksud akan ditagihkan melalui honorarium penggajian **PIHAK KEDUA** pada jangka waktu 1 (satu) bulan ke depan;
- (4) Kelalaian atas kewajiban sebagaimana dimaksud pada ayat (1) menyebabkan gugurnya hak untuk mengajukan usulan Penelitian pada tahun berikutnya;
- (5) **PIHAK KEDUA** wajib mengirimkan 3 (tiga) eksemplar **Laporan Akhir** Hasil Penelitian kepada Ketua Lembaga Penelitian FT-Unpas;
- (6) Laporan hasil Penelitiandalam bentuk "*hard copy*" tersebut pada ayat (3) diatas harus memenuhi ketentuan sebagai berikut :
  1. Bentuk/ukuran kertas A-4;
  2. Warna cover (d disesuaikan dengan ketentuan yang ditetapkan);
  3. Dibawah bagian kulit ditulis : Dibiayai oleh Fakultas Teknik Unpas.

#### PASAL 5

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** berhenti dari jabatannya sebelum pelaksanaan perjanjian ini selesai, maka **PIHAK KEDUA** wajib menyerahterimakan tanggungjawabnya kepada pejabat baru yang menggantikannya;
- (2) Apabila ketua peneliti sebagaimana dimaksud pada pasal 1 tidak dapat menyelesaikan pelaksanaan kegiatan ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib menunjuk pengganti ketua pelaksana yang setara sesuai dengan bidang ilmu dan merupakan salah satu anggota tim;
- (3) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana yang telah diterimanya ke kas Fakultas Teknik.

#### PASAL 6

- (1) Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah;
- (2) Hal-hal yang belum diatur dalam perjanjian ini diatur kemudian oleh kedua belah pihak secara musyawarah;
- (3) Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Hibah Program Penelitian dan Pengabdian Masyarakat ini dibuat 2 (dua) rangkap, dan keduanya bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku;
- (4) Biaya meterai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**.

#### PIHAK KESATU

Dekan  
Fakultas Teknik  
Universitas Pasundan,



**(DR. K. YUSMAN TAUFIK, M.P.)**  
NIP.Y : 151 102 30

#### PIHAK KEDUA

Ketua Tim  
Penelitian,

**(ISTİYATI INAYAH, S.SI., M.SI.)**  
NIP/NIP.Y : 151 105 81

# Skrining dan Uji Aktivitas *Lactobacillus plantarum* sebagai kandidat probiotik

---

## ORIGINALITY REPORT

---

**17** %

SIMILARITY INDEX

**15** %

INTERNET SOURCES

**2** %

PUBLICATIONS

**5** %

STUDENT PAPERS

---

## MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

---

2%

★ repository.uinjkt.ac.id

Internet Source

---

Exclude quotes  On

Exclude bibliography  On

Exclude matches  < 1%