LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PENELITI MUDA (LITMUD) UNPAD

Penelusuran Antibakteri Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Dalam *Yoghurt* Asal Kabupaten Bandung Barat Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Oleh:

Ketua : Rini Hendriani, M.Si., Apt
Anggota : 1. Tina Rostinawati, M Si., Apt
2. Sri Agung Fitri Kusuma, M Si., Apt

Dibiayai oleh Dana DIPA Universitas Padjadjaran
Tahun Anggaran 2009
Nomor SPK : 268/H6.26/LPPM/PL/2009
Tanggal : 30 Maret 2009

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS PADJADJARAN

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PADJADJARAN
NOVEMBER TAHUN 2009

ABSTRAK

Dilaporkan bahwa bakteriosin memegang peranan paling penting dalam menanggulangi infeksi. Telah dilakukan pengujian aktivitas bakteriosin sebagai produk metabolit dari beberapa bakteri asam laktat yang terdapat dalam beberapa produk yoghurt komersial yang terdapat di Kabupaten Bandung Barat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar. Pengujian dilakukan pada sampel yoghurt, produk supernatan yoghurt, dan produk ekstrasel Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari masing-masing sampel yoghurt. Hasil pengujian menunjukkan bahwa sampel yoghurt dan produk supernatan yoghurt yang memberikan aktivitas bakteriosin terbesar terhadap bakteri *E. coli* adalah Y_3, sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* adalah Y_2.

Kata kunci : Yoghurt, Bakteri Asam Laktat, BAL, Bakteriosin

ABSTRACT

Had been reported before that some bacteriocin of lactic acid bacteria have important role in against some infection. The bacteriocin activity as metabolite product of some acid lactate bacteria containing some commercial yoghurt from West Bandung was determined to against Escherichia coli and Staphylococcus aureus using agar diffusion method. The activity was determined from yoghurt products, supernatant product of yoghurt, and extra cell product of Lactic Acid Bacteria (LAB) which isolated from yoghurt. The result showed that yoghurt product and supernatant product of yoghurt which has the higher activity against E. coli is Y_3*, and against S. aureus is* Y_2*.*

Key word : Yoghurt, Lactic Acid Bacteria, LAB, Bacteriocin

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat ALLAH SWT berkat rahmat dan karuniaNya sehingga kami dapat menyusun dan menyelesaikan laporan akhir penelitian peneliti muda yang berjudul **Penelusuran Antibakteri Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Dalam *Yoghurt* Asal Kabupaten Bandung Barat Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.***

Kami mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu selama proses penelitian, terutama kepada pengelola dana DIPA yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melaksanakan penelitian. Kami berharap penelitian ini dapat dikembangkan pada kesempatan yang akan datang.

Kami menyadari bahwa dalam penulisan laporan akhir ini masih terdapat kekurangan,karena itu kami mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhir kata, penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Bandung, 2 November 2009

Penyusun

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK i

ABSTRACT ii

KATA PENGANTAR iii

DAFTAR ISI iv

DAFTAR TABEL vi

DAFTAR GAMBAR vii

DAFTAR LAMPIRAN viii

BAB I PENDAHULUAN 1

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 3
- 2.1 *Yoghurt* 3
- 2.2 Kandungan Nutrisi Yoghurt dan Jenis Yoghurt 4
- 2.3 Manfaat Yoghurt 5
- 2.4 Bakteri Asam Laktat 6
- 2.5 Senyawa Peptida Antimikroba 7
- 2.6 Bakteriosin 8

BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN 10
- 3.1 Tujuan Penelitian 10
- 3.2 Manfaat Penelitian 10

BAB IV METODE PENELITIAN 11
- 4.1 Pembuatan *Master Plate* Mikroba Uji 11
- 4.2 Pengujian Sampel Yoghurt terhadap Mikroba Uji 11
- 4.3.Pengujian Produk Supernatan Yoghurt terhadap Mikroba Uji 11
- 4.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sampel *Yoghurt* 12
- 4.5 Karakterisasi Koloni Tunggal BAL 12
- 4.6 Pengujian Produk Ekstrasel BAL terhadap Mikroba Uji 12

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN 14
- 5.1 Hasil Pengujian Sampel Yoghurt terhadap Mikroba Uji 14
- 5.2 Pengujian Produk Supernatan terhadap Mikroba Uji 14
- 5.3 Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sampel Yoghurt 15
- 5.4 Hasil Karakterisasi Koloni Tunggal BAL 15
- 5.5 Hasil Pengujian Produk Ekstrasel BAL terhadap Mikroba Uji 15

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 17
6.1 Kesimpulan 17
6.2 Saran 17

DAFTAR PUSTAKA 18

LAMPIRAN 20

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel

2.1 Senyawa Utama pada Susu dan Yoghurt ……..... 4

2.2 Kandungan Vitamin pada Susu dan Yoghurt 4

5.1 Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri *Yoghurt* 14

5.2 Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri Produk Supernatan Yoghurt 15

5.3 Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri Produk Ekstrasel BAL..... 16

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

5.1 Zona hambat sampel yoghurt terhadap *E. coli* dan *S. aureus* 20

5.2 Zona hambat produk supernatan yoghurt terhadap *E. coli* dan *S. aureus* 21

5.3 Zona hambat produk ekstrasel BAL terhadap Bakteri *E.coli*..... 22

5.4 Zona hambat produk ekstrasel BAL terhadap Bakteri *S. aureus*..... 23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK YOGHURT	20
2	HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK SUPERNATAN YOGHURT	21
3	HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK EKSTRASEL BAL	22
4	TENAGA PENELITI	24

BAB I
PENDAHULUAN

Dewasa ini yoghurt merupakan salah satu minuman kesehatan yang banyak dikonsumsi masyarakat dengan tujuan untuk mencegah atau mengobati suatu penyakit tertentu. Dilaporkan bahwa pasien yang mengkonsumsi yoghurt secara rutin dapat mengalami pengurangan serum kolesterol dan tekanan darah sebesar 5-10% pada 54 pasien, 17% pada 857 anak berusia 1-6 tahun yang mengalami infeksi saluran pencernaan karena *Helicobacter pylori*, 25% pada 541 pasien yang mengalami diare, 50% pada 134 pasien kasus alergi dan 40%-50% pada 208 pasien yang beresiko menderita kanker usus (Surajudin *et al.*, 2006; Shah, 1999; Suarsana *et al.*, 2005; Felley *et al.*, 2003). Yoghurt adalah produk hasil fermentasi sekelompok bakteri asam laktat (BAL) terhadap susu yang telah dipasteurisasi (Surajudin *et al.*, 2005).

Kemampuan BAL dalam menanggulangi penyakit infeksi dapat disebabkan karena produk metabolit yang dihasilkannya. BAL menghasilkan senyawa asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2) dan karbon dioksida (CO_2) serta senyawa peptida antimikroba yang bernama bakteriosin. Dilaporkan bahwa bakteriosin memegang peranan paling penting dalam menanggulangi infeksi (Oakey *et al.*, 2000). Kelebihan senyawa ini dibandingkan senyawa antimikroba lain adalah bekerja secara selektif, aman dan mampu mencegah atau menghambat resistensi (Marshall, 2003).

Akibat penggunaan antimikroba yang tidak selektif dan berkembangnya potensi resistensi mikroba, telah membuka ketertarikan untuk menggunakan alternatif antimikroba alami seperti bakteriosin. Keberadaan keanekaragaman bakteriosin yang tinggi ini dapat mencegah atau menghambat timbulnya resistensi.

Kabupaten Bandung Barat merupakan salah satu daerah penghasil susu di Jawa Barat dan produk olahannya, berupa *yoghurt*. Dengan dibuktikannya aktivitas antimikroba bakteriosin dari BAL dalam *yoghurt* asal kabupaten Bandung Barat ini dapat meningkatkan nilai ekonomi yoghurt tersebut. Keragaman mikroba di Indonesia yang tinggi dan belum tergali secara optimum

merupakan aset yang besar untuk pencarian bakteriosin yang berasal dari bakteri asam laktat (diketahui aman terhadap manusia) untuk digunakan sebagai antimikroba baru yang aman dan diduga tidak menimbulkan resistensi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Yoghurt

Kata Yoghurt berasal dari bahasa Turki yaitu *jugurt* atau *yogurut* yang artinya susu asam. Secara definisi, yoghurt adalah produk yang diperoleh dari susu yang telah dipasteurisasi, kemudian difermentasikan dengan bakteri tertentu sampai diperoleh keasaman, bau, dan rasa yang khas, dengan atau tanpa penambahan bahan lain (Surajudin *et al.*, 2006).

Yoghurt terbuat dari susu sapi segar atau produk susu olahan, bakteri starter, pemberi cita rasa dan penambahan susu skim sebagai pengental (De Vuyst, 2000). Bakteri yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu *Streptococcus salivarus subsp. thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sebagai starter dalam pembuatan yoghurt, serta *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium* sebagai bakteri probiotik (Shah, 1999).

Bakteri *Lactobacilus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai bakteri starter dalam pembuatan yoghurt digunakan dengan perbandingan 1 : 1. Kedua bakteri tersebut menguraikan laktosa susu menjadi asam laktat dengan berbagai komponen aroma dan cita rasa. *Lactobacilus bulgaricus* berperan dalam pembentukan aroma, sedangkan *Streptococcus thermophilus* berperan dalam pembentukan cita rasa khas yoghurt. Yoghurt dapat dibuat dari susu segar atau produk susu dengan atau tanpa penambahan susu bubuk atau susu skim bubuk. Sumber susu segar dapat berasal dari susu sapi, kerbau, kambing, unta, dan susu kedelai (Jay, 1992).

Cita rasa khas yoghurt timbul dari senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam yoghurt yaitu : asam-asam non-volatil (laktat, piruvat, oksalat), asam-asam mudah menguap (format, asetat, propionat), senyawa karbonil (asetaldehida, aseton) dan senyawa lain seperti asam-asam amino (Suarsana *et al.*, 2005).

2. 2 Kandungan Nutrisi Yoghurt dan Jenis Yoghurt

Yoghurt merupakan salah satu produk hasil fermentasi yang banyak mengandung nutrisi. Proses fermentasi yang terjadi pada yoghurt akan menambah

kandungan gizinya. Komposisi gizi pada yoghurt mirip dengan susu. Bahkan, terdapat komponen gizi yang jumlahnya lebih tinggi dari susu (Jay, 1992). Perbandingan nutrisi gizi yoghurt dan susu dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan 2.2.

Tabel 2.1 Senyawa Utama pada Susu dan Yoghurt (Surajudin *et al.*, 2006)

Komposisi (Unit/100 g)	Susu		Yoghurt		
	Murni	Skim	Full Fat	Low Fat	Fruit
Energi (kkal)	67,5	36	72	64	98
Protein (g)	3,5	3,3	3,9	4,5	5,0
Lemak (g)	4,25	0,13	3,4	1,6	1,25
Karbohidrat (g)	4,75	5,1	4,9	6,5	18,6
Kalsium (mg)	119	121	145	150	176
Fosfor (mg)	94	95	114	118	153
Natrium (mg)	50	52	47	51	-
Kalium (mg)	152	145	186	192	254

Tabel 2.2 Kandungan Vitamin pada Susu dan Yoghurt (Surajudin *et al.*, 2006)

Komposisi (Unit/100 g)	Susu		Yoghurt	
	Murni	Skim	Full Fat	Low Fat
Vitamin A (IU)	148	-	140	70
Thiamin (B1) (µg)	37	40	30	42
Riboflavin (B2) (µg)	160	180	190	200
Piridoksin (B6) (µg)	46	42	46	46
Sianokobalamin (B12) (µg)	0,39	0,4	-	0,23
Vitamin C (mg)	1,5	1,0	-	0,7
Vitamin D (IU)	1,2	-	-	-

Secara umum, yoghurt diklasifikasikan ke dalam dua kelompok, yaitu berdasarkan kandungan lemak dan bakteri yang difermentasikan.

1. Berdasarkan Kandungan Kadar Lemak

Yoghurt kadar lemak tinggi (4,5-10%), kadar lemak sedang (3-4%), kadar lemak rendah (1-3%), dan yoghurt kadar lemak sangat rendah (kurang dari 1%) (Surajudin *et al.*, 2006).

2. Berdasarkan bakteri yang difermentasikan
   a. Yoghurt murni

      Berasal dari proses fermentasi *Lactobacilus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai bakteri starter pembuat yoghurt.

   b. Yoghurt probiotik

      Yoghurt yang mengandung bakteri starter dan probiotik yang ditambahkan dalam proses fermentasinya. Bakteri yang sering ditambahkan dalam yoghurt probiotik adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium* (Shah, 1999).

2. 3 Manfaat Yoghurt

Beberapa manfaat yoghurt yang ditimbulkan oleh bakteri asam laktat dalam yoghurt yaitu :

1. Mengatasi Laktosa Intoleran

   Laktosa intoleran adalah suatu kondisi dimana usus tidak dapat mencerna dan menyerap laktosa secara sempurna. Hal ini terjadi karena terbatasnya enzim laktase pada saluran pencernaan yang berfungsi dalam memecah laktosa. Adanya luka karena virus atau gangguan saluran pencernaan pada lapisan usus terutama pada sel-sel penghasil enzim laktase akan menyebabkan produksi enzim laktase sangat terbatas. Tanda atau gejala seseorang mengalami laktosa intoleran setelah minum susu adalah diare, mual, muntah, dan gejala sakit perut lainnya. Bakteri asam laktat dalam yoghurt dapat menguraikan laktosa susu menjadi monosakarida yaitu glukosa dan galaktosa, sehingga susu mudah dicerna dan diserap tubuh. Selama proses pembuatan yoghurt diperkirakan terdapat 30% laktosa susu yang diurai menjadi glukosa dan galaktosa (Surajudin *et al.*, 2006).

2. Menyeimbangkan Sistem Pencernaan

   Bakteri dalam yoghurt akan menjaga keseimbangan flora normal usus, sehingga dapat memperbaiki dan menyempurnakan fungsi pencernaan. Selain

itu, yoghurt juga memiliki daya antibiotika yang dapat menghindarkan pembusukan dini dalam usus halus (Shah, 1999).

3. Menurunkan Kadar Kolesterol

   Bakteri asam laktat dalam yoghurt dapat menghasilkan sejumlah asam organik seperti asam propionat, dan asam orotat yang berperan dalam penurunan kadar kolesterol. Asam propionat akan menghambat sintesis kolesterol dalam hati dengan cara menekan aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metil glutaril CoA reduktase sebagai salah satu pemicu sintesis kolesterol. Kemudian kolesterol dalam tubuh akan diubah oleh bakteri asam laktat dalam yoghurt menjadi coprostanol, sebuah sterol yang tidak dapat diserap oleh usus. Dengan demikian coprostanol dan sisa kolesterol akan dikeluarkan bersama dengan tinja. Senyawa asam orotat dalam yoghurt akan bersaing dengan kolesterol dari makanan untuk pembentukan kolesterol dalam hati sehingga produksi kolesterol tetap normal (Suarsana *et al*., 2005).

4. Mencegah Kanker

   Senyawa yang terkandung dalam yoghurt akan memacu sistem pertahanan tubuh, seperti interferon dan sel NK (*natural killer cell*) yang akan melawan tumor dan kanker. Selain itu, unsur probiotik dalam yoghurt akan menekan pertumbuhan dan aktivitas mikroba usus halus yang memproduksi senyawa racun atau asam lemak berantai pendek. Yoghurt juga akan mengikat dan memindahkan senyawa karsinogen, memproduksi senyawa antimutagenik yang akan menghambat munculnya kanker, dan memproduksi senyawa butirat yang akan menstimulasi penghancuran sel abnormal yang berpotensi menjadi sel kanker (Surajudin *et al*., 2006).

5. Mengatasi Infeksi Jamur dan Bakteri

   Bakteri asam laktat dalam yoghurt akan menghasilkan suatu senyawa antimikroba yang disebut bakteriosin, yang akan melawan infeksi mikroba patogen dalam tubuh, seperti infeksi karena jamur *Candida albicans* dan bakteri *Helicobacter pylori*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa yoghurt bekerja secara sinergis jika digunakan bersama dengan antibiotik biasa (Felley *et al*., 2003).

2.4 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang termasuk dalam filum Firmicute. Bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Lactosphaera, Leuconostoc, Melissococcus, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* dan *Weissella* (Jay, 1992). Kelompok bakteri ini termasuk bakteri Gram positif, tidak berspora, tidak berpigmen mesofil, serta berbentuk kokus dan batang. Bakteri ini dapat hidup pada temperatur antara 5 – 50 ºC dan bersifat katalase negatif (Perry *et al.*, 1997).

Nama bakteri asam laktat diperoleh dari kemampuannya dalam memfermentasi gula menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat juga terdapat dalam tubuh manusia sebagai flora normal tubuh (Prescott *et al.*, 2002). Selain pada manusia, bakteri ini juga dapat ditemukan pada produk sayuran dan susu.

2. 5 Senyawa Peptida Antimikroba

Senyawa peptida antimikroba (*Antimicrobial Peptide*, AMP) adalah senyawa dengan bobot molekul rendah baik berupa protein atau peptida pendek yang memiliki aktivitas menghambat atau membunuh mikroba (antimikroba) (Marshall, 2003). Senyawa ini dapat dihasilkan oleh beberapa organisme prokariot seperti bakteri dan oleh organisme eukariot seperti invertebrata, tumbuhan dan hewan (Hancock *et al.*, 1999).

AMP merupakan molekul kofaktor dalam sistem pertahanan tubuh dan sistem imunitas terhadap infeksi (Yeaman *et al.*,2005). Adanya perbedaan pada sel mikroba dan mamalia menjadi dasar selektifitas kerja AMP. Perbedaan tersebut meliputi komposisi dan struktur membran, energi potensial dan polarisasi transmembran, serta struktur sterol, lipopolisakarida (LPS) dan peptidoglikan (Epand *et al.*, 1999). Keseimbangan interaksi elektrostatik dan hidrofobisitas AMP dengan sel targetnya menjadikan AMP bersifat toksisitas selektif. Dengan demikian penggunaan AMP dalam pengobatan tidak memberikan efek samping pada sel hospes (Hancock *et al.*,1999).

AMP membentuk struktur amfifatik (mengandung bagian hidrofil dan bagian hidrofob) dan bersifat kationik pada pH fisiologi (Hancock *et al.*,1999).

Senyawa ini memiliki struktur dan urutan asam amino yang beragam, sehingga efektif dalam mencegah atau menghambat resistensi (Marshall, 2003).

Umumnya molekul AMP mempunyai mekanisme kerja yang kompleks dan tidak identik. Selain menjadikan membran luar sel sebagai target, AMP juga menjadikan komponen di dalam sitoplasma sebagai target. Penggunaan AMP dalam bidang pengobatan sangat potensial, karena AMP dapat merekonstruksi sel target dan memiliki kemampuan antimikroba yang lebih kuat dibanding antibiotik biasa . Senyawa ini dapat (Yeaman *et al*., 2005) :

1. Meregulasi sel target untuk memodifikasi struktur di luar selnya agar lebih sensitif terhadap antibiotik.
2. Mengatasi resistensi.
3. Bekerja secara non-kompetitif dengan antibiotik biasa.

2.6 Bakteriosin

Bakteriosin merupakan senyawa peptida antimikroba yang berasal dari bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteriosin dapat bersifat kationik, anionik dan netral. Senyawa ini disintesis dalam ribosom bakteri serta memiliki aktivitas bervariasi dalam spektrum antimikroba yang luas (Hancock *et al*., 1999). Bakteriosin merupakan peptida ekstraselular bioaktif atau peptida kompleks yang bakterisida atau bakteriostatik melawan spesies lain, terutama bakteri dengan strain yang berdekatan. Akan tetapi, dalam beberapa kasus, bakteriosin juga dapat melawan bakteri dengan strain yang berjauhan dengan bakteri penghasilnya (Oakey *et al.*, 2000).

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang paling banyak menghasilkan bakteriosin. Secara umum, bakteriosin yang disekresikan oleh BAL merupakan peptida kationik kecil dengan 30 sampai 60 residu asam amino dan tahan terhadap pemanasan (Balasubramanyam *et al.*, 1995). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ditemukan sebanyak lebih dari 50 jenis bakteriosin berbeda yang dihasilkan oleh BAL. Beberapa bakteriosin dari BAL yang telah dikarakterisasi adalah Nisin yang dihasilkan dari beberapa strain *Lactococcus lactis*, Lactococcus A dan B dari *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, Pediocin dari *Pediococcus acidilactici*, Lactacin dari *Lactobacillus jhonsonii*,

Lactostrepsin dari *Streptococcus cremoris*, dan Curvacin dari *Lactobacillus curvatus* (Neetles *et al*., 1993).

BAB III
TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas bakteriosin dari BAL pada beberapa sampel *yoghurt* komersial yang diproduksi di Kabupaten Bandung Barat.

3.2 Manfaat Penelitian

Dengan dibuktikannya aktivitas antibakteri bakteriosin dari *yoghurt* asal Kabupaten Bandung Barat dapat memberikan informasi ilmiah khasiat *yoghurt* sehingga menambah ketertarikan masyarakat untuk mengkonsumsinya. Hal ini dapat meningkatkan nilai ekonomi *yoghurt* asal Kabupaten Bandung Barat.

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1 Pembuatan *Master Plate* Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* (ATCC 25922) dan *Staphylococcus aureus* (ATCC 939).

1. Pembuatan *Master Plate E. coli*

Satu koloni tunggal bakteri *E. coli* digoreskan pada media *NA* dan diinkubasi pada suhu 37 C selama 18 jam.

2. Pembuatan *Master Plate S. aureus*

Satu koloni tunggal bakteri *S. aureus* digoreskan pada media *NA* dan diinkubasi pada suhu 37 C selama 18 jam.

4.2 Pengujian Sampel Yoghurt terhadap Mikroba Uji

Pengujian ini dilakukan untuk melihat aktivitas produk yoghurt terhadap mikroba uji. Tiap sampel yoghurt dipanaskan pada suhu 80 °C selama 10 menit dan ditambahkan larutan NaOH 1 N hingga pH larutan 7,0 (netral). Kemudian sampel yoghurt tersebut diteteskan pada media uji. Media uji yang digunakan adalah media *NA* yang telah mengandung suspensi mikroba uji dan telah dilubangi perforator. Lalu media uji tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 18 jam. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur.

4.3 Pengujian Produk Supernatan Yoghurt terhadap Mikroba Uji

Pengujian ini dilakukan untuk melihat aktivitas ekstrasel produk *yoghurt* terhadap mikroba uji.

1. Pemisahan Produk Supernatan dan Endapan Sel

Tiap sampel yoghurt disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit pada suhu 5 ºC hingga produk supernatan dan endapan sel terpisah sempurna.

2. Pengujian Produk Supernatan terhadap Mikroba Uji

Tiap produk supernatan dipanaskan pada suhu 80 °C selama 10 menit dan ditambahkan larutan NaOH 1 N hingga pH larutan 7,0 (netral). Kemudian produk

supernatan tersebut diteteskan pada media uji. Media uji yang digunakan adalah media *NA* yang telah mengandung suspensi mikroba uji dan telah dilubangi perforator. Lalu media uji tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 18 jam. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur.

4.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sampel *Yoghurt*

Tiap produk yoghurt diencerkan dengan NaCl 0,9 % dengan hingga diperoleh konsentrasi larutan 10^{-1}, 10^{-2} dan 10^{-3}. Dari masing-masing pengenceran diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan dalam 15 mL media MRS agar. Kemudian setiap pengenceran tersebut diinkubasi secara aerob pada suhu 37 C selama 72 jam.

4.5 Karakterisasi Koloni Tunggal BAL

Karakterisasi koloni tunggal BAL dilakukan untuk menghindari pengujian BAL yang sama dari satu sampel yoghurt. Karakterisasi ini dilakukan dengan cara mengamati morfologi koloni berdasarkan warna dan bentuk koloni yang berbeda. Kemudian dibuat *master plate* BAL hasil isolasi dari sampel yoghurt komersial.

4.6 Pengujian Produk Ekstrasel BAL terhadap Mikroba Uji

Pengujian ini dilakukan untuk melihat aktivitas bakteriosin sebagai produk ekstrasel BAL hasil isolasi dari sampel yoghurt terhadap mikroba uji.

1. Pemisahan Produk Ekstrasel dan Endapan sel

Tiap koloni tunggal dari *master plate* BAL diambil satu ose dan disuspensikan dalam 10 mL media MRS cair, lalu diinkubasi secara aerob pada suhu 37 C selama 24 jam. Kemudian setiap suspensi BAL disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit pada suhu 5 ºC. Proses ini dilakukan hingga produk ekstrasel dan endapan sel terpisah sempurna.

2. Pengujian Produk Ekstrasel terhadap Mikroba Uji

Tiap produk ekstrasel BAL dipanaskan pada suhu 80 °C selama 10 menit dan ditambahkan larutan NaOH 1 N hingga pH larutan 7,0 (netral). Kemudian produk eksrasel tersebut diteteskan pada media uji. Media uji yang digunakan adalah media *NA* yang telah mengandung suspensi mikroba uji dan telah

dilubangi perforator. Lalu media uji tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 18 jam. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur.

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Pengujian Sampel Yoghurt terhadap Mikroba Uji

Pengujian ini dilakukan untuk melihat aktivitas bakteriosin dari sampel yoghurt komersial terhadap mikroba uji. Diameter hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan lampiran 1.

Tabel 5.1 Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri *Yoghurt*

No.	Sampel Yoghurt	Diameter (mm)	
		E. coli	*S. aureus*
1.	Y_1	11,60	35,45
2.	Y_2	10,80	36,15
3.	Y_3	15,75	32,40
4.	Y_4	10,95	32,30
5.	Y_5	14,10	34,05

Keterangan :
Y = Yoghurt
$_{1,2,3,4,5}$ = Nomor sampel yoghurt

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas *yoghurt*, dapat terlihat bahwa *yoghurt* nomor 3 memberikan aktivitas antibakteri terbesar terhadap *E. coli*, sedangkan yang memberikan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *S. aureus* adalah *yoghurt* nomor 2. Diduga kandungan dan kuantitas zat antibakteri dalam masing-masing yoghurt berbeda. Zat antibakteri tersebut dapat berupa bakteriosin, karena antibakteri yang lain yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam yoghurt tersebut telah diinaktifkan dengan penambahan NaoH untuk menetralkan asam yang dihasilkan. Sedangkan untuk merusak hidrogen peroksida yang juga dapat bersifat antibakteri, telah diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 80 °C selama 10 menit. Untuk memperoleh bakteriosin tersebut, telah dilakukan pemisahan supernatant dari masing-masing *yoghurt* untuk diujikan aktivitas antibakterinya terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

5.2 Pengujian Produk Supernatan terhadap Mikroba Uji

Pengujian produk supernatan masing-masing yoghurt masih memberikan aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji. Hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas bakteriosin pada produk supernatan yoghurt. Hasil pengujian

menggunakan volume produk supernatan yoghurt 50 µL dan perforator berdiameter 9,00 mm dapat dilihat pada Tabel 5.2 dan Lampiran 2.

Tabel 5.2 Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri Produk Supernatan Yoghurt

No.	Sampel Yoghurt	Diameter (mm)	
		E. coli	*S. aureus*
1.	Y_1	10,40	27,55
2.	Y_2	10,15	28,60
3.	Y_3	12,05	26,70
4.	Y_4	10,20	26,95
5.	Y_5	11,55	14,20

Keterangan :
Y = Yoghurt
$_{1,2,3,4,5}$ = Nomor sampel yoghurt

Berdasarkan zona yang diukur, dapat dilihat bahwa hasil pengujian produk supernatan yoghurt sama dengan hasil pengujian sampel yoghurt. Semua produk supernatan yoghurt memberikan aktivitas antimikroba kuat terhadap bakteri *S. aureus* dan lemah terhadap bakteri *E. coli.* Produk supernatan yoghurt yang memberikan aktivitas bakteriosin terbesar terhadap bakteri *E. coli* adalah Y_3 dan Y_5, sedangkan Produk supernatan yoghurt yang memberikan aktivitas bakteriosin terbesar terhadap bakteri *S. aureus* adalah Y_1 dan Y_2.

5.3 Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Sampel Yoghurt

Isolasi BAL pada media MRS agar dari setiap pengenceran menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada permukaan media dan di dalam media MRS agar. Diduga jenis BAL yang digunakan dalam pembuatan masing-masing yoghurt merupakan bakteri asam laktat yang bersifat aerob dan anaerob fakultatif.

5.4 Hasil Karakterisasi Koloni Tunggal BAL

Karakterisasi koloni tunggal BAL dilakukan untuk memastikan identitas BAL yang telah diisolasi untuk menghindari perolehan bakteri uji yang sama dari satu sampel yoghurt. Berdasarkan morfologi dan warna koloni diperoleh 15 koloni tunggal yang diisolasi dari lima sampel yoghurt dan ditumbuhkan sebagai *master plate*.

5.5 Hasil Pengujian Produk Ekstrasel BAL terhadap Mikroba Uji

Pengujian ini dilakukan untuk melihat aktivitas bakteriosin sebagai produk ekstrasel dari BAL hasil isolasi sampel yoghurt komersial terhadap mikroba uji. Pengujian produk ekstrasel BAL menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas bakteriosin pada

ekstrasel BAL. Hasil pengujian produk ekstrasel BAL dengan volume ekstrasel 50 µL dan perfolator berdiameter 9,00 mm dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Diameter Hambat Aktivitas Antibakteri Produk Ekstrasel BAL

No.	BAL	Diameter (mm)	
		E. coli	***S. aureus***
1.	$Y_{1.1}$	10,15	13,50
2.	$Y_{1.2}$	10,05	9,00
3.	$Y_{1.3}$	9,00	10,10
4.	$Y_{2.1}$	10,35	15,65
5.	$Y_{2.2}$	10,45	9,00
6.	$Y_{2.3}$	9,00	9,00
7.	$Y_{2.4}$	9,00	9,00
8.	$Y_{2.5}$	10,20	10,50
9.	$Y_{2.6}$	9,00	11,35
10.	$Y_{2.7}$	9,00	10,75
11.	$Y_{3.1}$	10,80	11,40
12.	$Y_{3.2}$	10,30	10,65
13.	$Y_{4.1}$	10,60	11,85
14.	$Y_{5.1}$	10,40	11,70
15.	$Y_{5.2}$	9,00	11,50

Keterangan :

Y_1 = BAL dari Yoghurt 1
$_{1.1, 1.2, 1.3}$ = Nomor koloni BAL

Y_2 = BAL dari Yoghurt 2
$_{2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7}$ = Nomor koloni BAL

Y_3 = BAL dari Yoghurt 3
$_{3.1, 3.2}$ = Nomor koloni BAL

$Y_{4.1}$ = BAL dari Yoghurt 4

Y_5 = BAL dari Yoghurt 5
$_{5.1, 5.2}$ = Nomor koloni BAL

Hasil pengujian produk ekstrasel BAL menunjukkan beberapa koloni yang memiliki aktivitas antimikroba pada *S. aureus* dan *E. coli* adalah koloni $Y_{1.1}$, $Y_{2.1}$, $Y_{2.5}$, $Y_{3.1}$, $Y_{3.2}$, $Y_{4.1}$, dan $Y_{5.1}$. Koloni yang hanya memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri *E. coli* adalah koloni $Y_{1.2}$ dan $Y_{2.2}$, sedangkan pada bakteri *S. aureus* adalah koloni $Y_{1.3}$, $Y_{2.6}$, $Y_{2.7}$, dan $Y_{5.2}$.

Aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh produk ekstrasel BAL lebih kecil dibandingkan dengan aktivitas antimikroba pada sampel yoghurt dan produk supernatan yoghurt. Hal ini dikarenakan dalam satu sampel yoghurt terdapat beberapa jenis BAL yang mampu menghasilkan bakteriosin. Senyawa tersebut akan bekerja secara sinergis dan non kompetitif antara satu sama lain, sehingga aktivitas yang ditimbulkan akan lebih besar. Hasil pengujian produk ekstrasel BAL dapat dilihat pada Lampiran 3.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Hasil pengujian sampel yoghurt, produk supernatan yoghurt, dan produk ekstrasel Bakteri Asam Laktat (BAL) hasil isolasi dari sampel yoghurt menunjukkan adanya aktivitas bakteriosin. Hal ini ditunjukkan dengan terdapatnya zona hambat pada media yang mengandung bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.

Sampel yoghurt dan produk supernatan yoghurt yang memberikan aktivitas bakteriosin terbesar terhadap bakteri *E. coli* adalah Y_3 dan terhadap bakteri *S. aureus* adalah Y_2. Aktivitas bakteriosin terbesar terhadap bakteri *E. coli* diperoleh dari koloni $Y_{3.1}$, sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* diperoleh dari koloni $Y_{2.1}$.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui identitas BAL penghasil bakteriosin yang terdapat dalam sampel yoghurt komersial.

DAFTAR PUSTAKA

Atlas, R.M., 1993. *Handbook of Microbiological Media*. London : CRCP Press. Halaman : 621-722.

Balasubramanyam, B.V. and Varadaraj, M.J., 1995. Antibacterial effect of *Lactobacillus spp*. On foodborne pathogenic bacteria in an Indian milk based fermeted culinary food item. *Cultured Dairy Product J.*, 30 : 22-24, 26-27.

Barefoot, S.F. and Neetles, CG., 1993. Antibiosis revisited : bacteriocins produced by dairy starter culture. *J. Dairy Sci.*, 76 : 2366-2379.

De Vuyst L.,2000, IMDO : *Industrial Microbiology, Fermentation Technology and Downstream Processing*, Departement of Industrial Microbiology., 55-56.

Epand R. M., Vogel H. J., 1999, Diversity of Antimicrobial Peptides and Their Mechanisms of Action, *Biochim. Biophys. Acta*. 1462 : 11-28.

Fardiaz, Srikandi, 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor : IPB Press. Halaman : 49-63, 135-149.

Felley, C and Michetti, P., 2003. Probiotics and Helicobacter pylori_. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* Oct;17(5):785-91.

Hancock R.E. and Chapple D. S., 1999. Peptide Antibiotics. *Antimicrob. Agent Chemoter.*, 46 : 1322-1323.

Jawetz, Melnick, Aldelberg, 2004. *Medical Microbiology*, 23rd edition. USA : McGraw-Hill Companies. Halaman : 56-94, 223-254.

Jay, J.M., 1992. *Modern Food Microbiology*, Fourts Edition. New York : Chapman and Hall. Halaman : 268-277, 371-403.

Madigan, M.T., 1997. *Biology of Microorganisms*, Eighth Edition. New Jersey : Prentice Hall International. Halaman : 67-80.

Marshall, S.H., 2003. Antimicrobial Peptides : As Natural Alternative to Chemical Antibiotics And a Potential for Applied Biotechnology. *Electron. J. Biotech.*, 3 : 6.

Neetles, C.G. and Barefoot, S.F., 1993. Biochemical and genetic characteristic of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *J. Food Prot.*, 56 : 338-356.

Oakey L., Carroll K., McClean S., Keller F., Costello M., Behan J., 2000. *Antimicrobial peptide-alternative to antibiotics ?*. Institute of Technology Tallaght.

Perry, J.J. and Stanley, J.T., 1997. *Microbiology, Dynamics and Diversity***.** USA : Saunders College Publishing. Halaman : 480-490, 864-869.

Prescott, Lansing, M., Harley, J.P., 2003. *Microbiology,* fifth edition. New York : The McGraw Hill Companies, Inc. Halaman : 529-532.

Shah, N. P., 1999. Probiotic Bacteria : Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J. Dairy Sci.,* 83 : 894-907.

Suarsana, N.I., Suarini A.G., Utama H.I., 2004. Pengaruh Yoghurt Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Profil Lipoprotein Serum Kelinci. *J. Veteriner,* 5 : 12-14.

Surajudin, Kusuma, F.R., Purnomo, Dwi, 2006. *Yoghurt, Susu Fermentasi yang Menyehatkan.* Jakarta : Agromedia Pustaka. Halaman : 7-47.

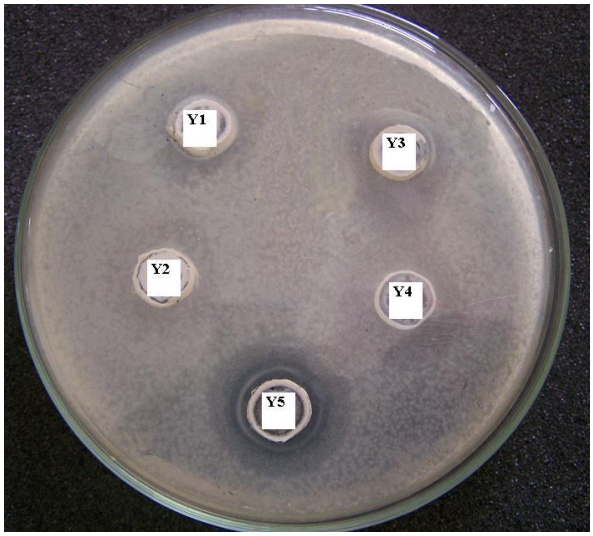
Tagg, J.R., Ray, B., 1995. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Microb. Reviews*, 59: 171-200.

Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L., 1997. *Microbiology an introduction*, Sixth Edition. California : Addison Wesley Longman. Inc. Halaman : 549-554.

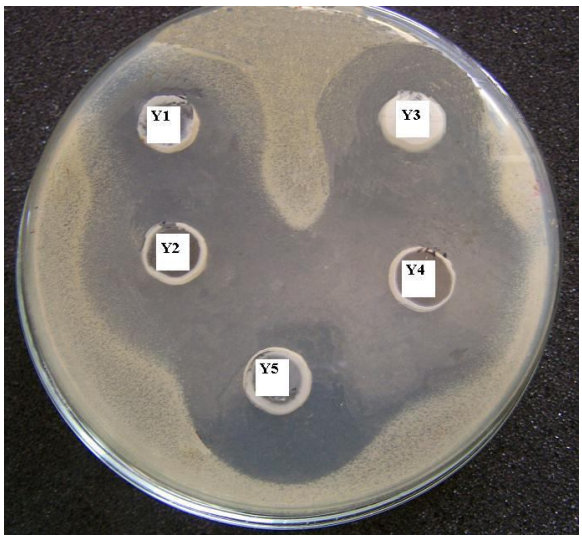
Yeaman M. R., Yount N. Y., 2003, Perspectives in Antimicrobial Peptide Mechanism of Action and Resistance, *Pharmacol. Rev.,* 55 : 27 – 55.

LAMPIRAN 1

HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK YOGHURT



(1)



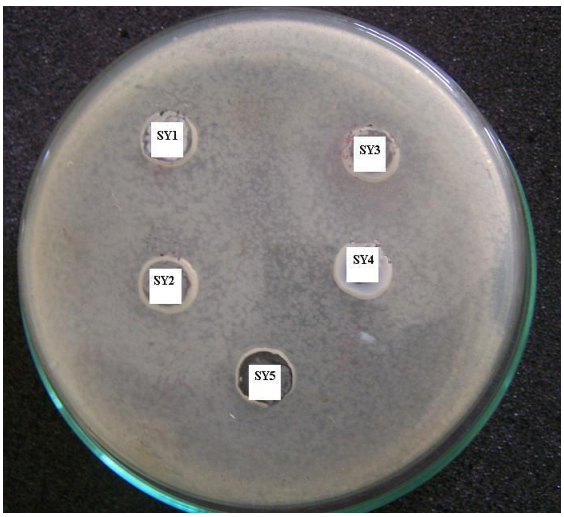
(2)

Gambar 5.1 Zona hambat sampel yoghurt : (1) terhadap Bakteri *E.coli*
(2) terhadap Bakteri *S. aureus*

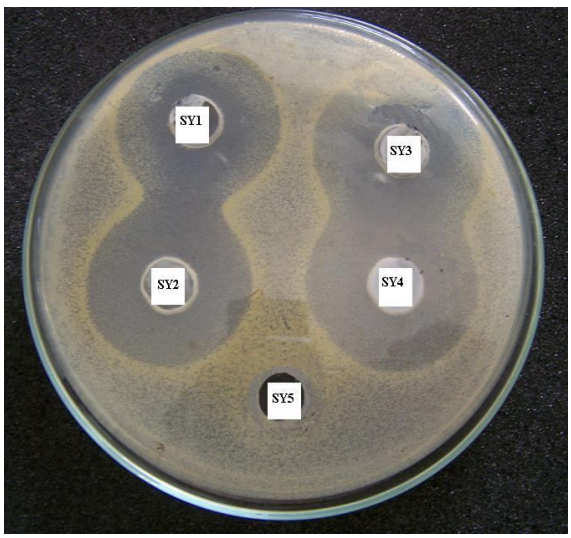
Keterangan :
Y = Yoghurt
$_{1,2,3,4,5}$ = Nomor sampel yoghurt

LAMPIRAN 2

HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK SUPERNATAN YOGHURT



(1)



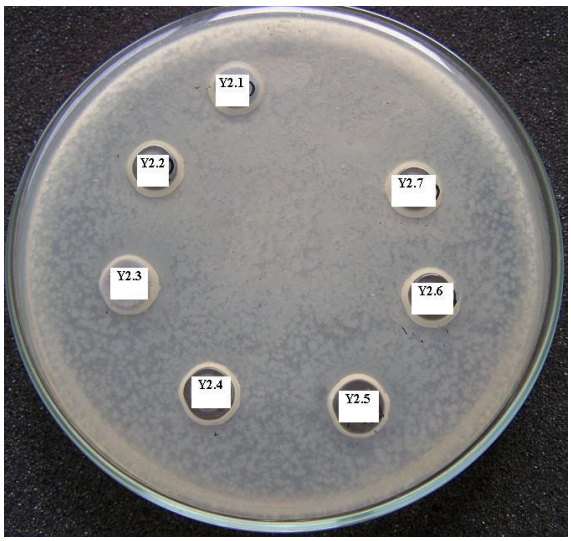
(2)

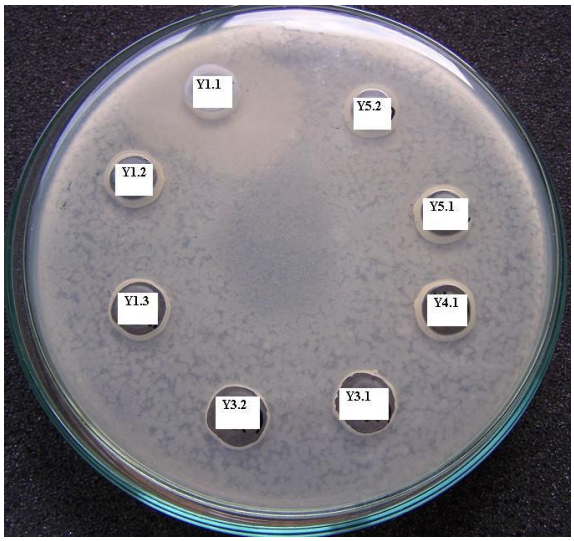
Gambar 5.2 Zona hambat produk supernatan yoghurt : (1) terhadap Bakteri *E.coli*
(2) terhadap Bakteri *S. aureus*

Keterangan :
SY = Supernatan Yoghurt
$_{1,2,3,4,5}$ = Nomor sampel yoghurt

LAMPIRAN 3

HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS BAKTERIOSIN DARI PRODUK EKSTRASEL BAL

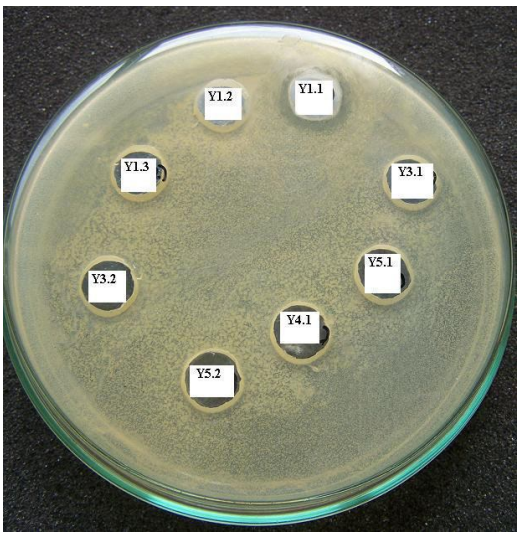


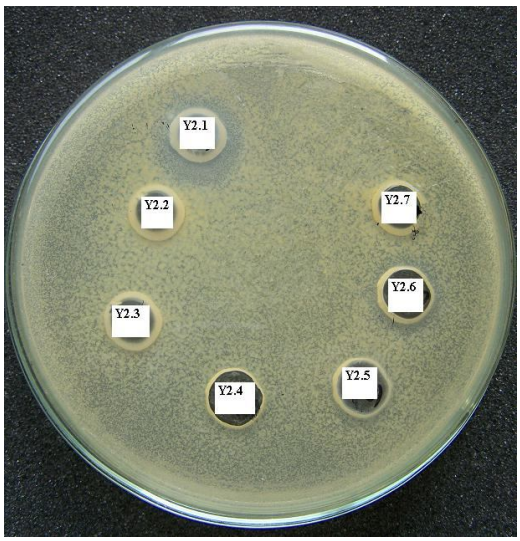


Gambar 5.3 Zona hambat produk ekstrasel BAL terhadap Bakteri *E.coli*

LAMPIRAN 3

(Lanjutan)





Gambar 5.4 Zona hambat produk ekstrasel BAL terhadap Bakteri *S. aureus*

LAMPIRAN 4
TENAGA PENELITI

CURRICULUM VITAE KETUA PENELITI

1. **Nama lengkap** : Rini Hendriani, M.Si., Apt
2. **NIP** : 132 317 750
3. **Pangkat/ Golongan** : Penata muda/ IIIb
4. **Jabatan Fungsional** : -
5. **Jabatan Struktural** : -
6. **Unit kerja** : Fakultas Farmasi UNPAD
7. **Alamat & Tlp. Rumah, HP** : Jl. Sinom No. 12
   Bandung, No. Hp : 08122372142
8. **Alamat Kantor** : Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363, No. Telp : (022) 7796200
9. **Riwayat pendidikan**

   1990 – 1994 : Sarjana Farmasi
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
   Institut Teknologi Bandung

   1995 – 1996 : Profesi Apoteker
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
   Institut Teknologi Bandung

   2003 – 2006 : Magister Farmakologi Toksikologi
   School of Pharmacy
   Institut Teknologi Bandung

10. **Riwayat pekerjaan** :
    - Penanggungjawab teknis dan Quality Assurance PT. Krisna Mulia Nusantara
    - Staf pengajar Farmasi UNPAD

11. **Pengalaman penelitian** :

    2006 : Uji Toksisitas Subkronis

CURRICULUM VITAE ANGGOTA PENELITI

1. **Nama lengkap** : Tina Rostinawati, S.Si. M.Si., Apt
2. **NIP** : 132 317 752
3. **Pangkat/ Golongan** : Penata muda/ IIIb
4. **Jabatan Fungsional** : -
5. **Jabatan Struktural** : -
6. **Unit kerja** : Fakultas Farmasi UNPAD
7. **Alamat & Tlp. Rumah, HP** : Jl. Babakan Sumedang No. 40 Komplek Boromeus Cinunuk Bandung, No. Hp : 081394078173
8. **Alamat Kantor** : Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363, No. Telp : (022) 7796200
9. **Riwayat pendidikan**

   1992 – 1997 : Sarjana Farmasi
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
   Institut Teknologi Bandung

   1997 – 1998 : Profesi Apoteker
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
   Institut Teknologi Bandung

   2003 – 2006 : Magister Mikrobiologi Farmasi
   School of Pharmacy
   Institut Teknologi Bandung

10. **Riwayat pekerjaan** : Staf pengajar Farmasi UNPAD
11. **Pengalaman penelitian** :

    2006 : Kloning Fragmen DNA Pengkode S80-180 Galur Alami dan Mutan G145R Virus Hepatitis B pada *Escherichia coli* BL 21

CURRICULUM VITAE ANGGOTA PENELITI

1. **Nama lengkap** : Sri Agung Fitri Kusuma, M.Si., Apt
2. **NIP** : 132 300 464
3. **Pangkat/ Golongan** : Penata Muda/ IIIb
4. **Jabatan Fungsional** : Lektor
5. **Jabatan Struktural** : -
6. **Unit kerja** : Fakultas Farmasi UNPAD
7. **Alamat & Tlp. Rumah, HP** : Jl. Ir. H. Juanda Gg. H. Wardia No. 10 Bandung, No. Hp : 081573923200, (022) 92432827, email : safk_y@yahoo.com
8. **Alamat Kantor** : Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363, No. Telp : (022) 7796200
9. **Riwayat pendidikan**

   1997 – 2002 : Sarjana Farmasi
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Bandung

   2002 – 2003 : Profesi Apoteker
   Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Bandung

   2003 – 2005 : Magister Mikrobiologi Farmasi
   School of Pharmacy
   Institut Teknologi Bandung

10. **Riwayat pekerjaan** : Staf pengajar Farmasi UNPAD
11. **Pengalaman penelitian** :

    2005 : Regulasi Produksi Ornitin Karbamoyltransferase *Streptococcus pyogenes* CS24 Oleh Albumin Serum Manusia
    Laboratorium Biokimia Dan Rekayasa genetika
    KPP Bioteknologi ITB

    2006 : Deteksi Keberadaan Gen Resistensi Ampisilin Pada Bakteri E*scherichia coli* Isolat Klinik Dengan Metode P*olymerase Chain Reaction* (PCR)
    Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi
    Universitas Padjadjaran Bandung

Publikasi :

R. Ellyasheva, **S.A. Fitri Kusuma**, S.A. Lestari, C. Riani, B. Iskandar, and D. S. Retnoningrum, 2005, Overexpression and Purification of Ornithine Carbamoyl Trasferase, a Human Serum Albumin Induced Protein of *Streptococcus pyogenes* CS24, 9th National Congress of Indonesian Society for Microbiology and 3rd Asian Conference for Lactic Acid Bacteria, Denpasar, Indonesia, 25 – 27 August 2005.