

TUGAS AKHIR

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *LACTOBACILLUS SPP.* DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN AIR *E-COLI*
DAN *SALMONELLA SPP.* SECARA *IN-VITRO***



HASMILA

D12116012

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

FAKULTAS TEKNIK

UNIVERSITAS HASANUDDIN

GOWA

2021



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN
JL. POROS MALINO. KM.6 BONTOMARANNU KAB. GOWA

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin Gowa.

Judul : *Uji Kemampuan Bakteri Lactobacillus SPP Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Air E-Coli Dan salmonella SPP Secara In-Vitro*

Disusun Oleh :

Nama : **Hasmila**

NIM : **D12116012**

Telah diperiksa dan disetujui
Oleh Dosen Pembimbing

Gowa, 25 Mei 2021

Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Mary Selintung, MSc.
NIDK : 194306122018016000

Pembimbing II

Dr. Roslinda Ibrahim, S.P., M.T.
NIP.197506232015042000

Menyetujui,
Ketua Departemen Teknik Lingkungan



Dr. Eng. Muralia Hnstim, S.T., M.T
NIP.197204242000122000

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, nama Hasmila, dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “**Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus Spp.* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen Air *E-Coli* dan *Salmonella Spp.* secara *In-Vitro***”, adalah karya ilmiah penulis sendiri, dan belum pernah digunakan untuk mendapatkan gelar apapun dan dimanapun.

Karya ilmiah ini sepenuhnya milik penulis dan semua informasi yang ditulis dalam skripsi yang berasal dari penulis lain telah diberi penghargaan, yakni dengan mengutip sumber dan tahun penerbitannya. Oleh karena itu semua tulisan dalam skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis. Apabila ada pihak manapun yang merasa ada kesamaan judul dan atau hasil temuan dalam skripsi ini, maka penulis siap untuk diklarifikasi dan mempertanggungjawabkan segala resiko.

Gowa, 27 Mei 2021

Yang membuat pernyataan,



Hasmila

D12116012

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan atas berkat rahmat dan karunia Allah subhanahu wa ta'ala serta salam dan shalawat kepada Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam. Dengan segala ikhtiar yang dilakukan dan dengan digerakkannya hati dan pikiran penulis oleh Allah subhanahu wa ta'ala sehingga mampu menyelesaikan tugas akhir ini dengan judul **“Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacilus spp.* Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen Air *E-Coli Dan Salmonella spp.* Secara *In-Vitro*”**. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu persyaratan kelulusan pada jenjang strata satu Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.

Tugas akhir ini berisi tentang penelitian terkait kemampuan bakteri gram positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dalam air. Pada umumnya kita tahu bahwa air adalah kebutuhan yang tak bisa dipisahkan dari keberlangsungan hidup manusia. Dalam penyusunannya tentu penulis banyak mengalami hambatan, namun berkat bantuan, bimbingan, nasehat, dan doa dari berbagai pihak utamanya dari dosen pembimbing sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir ini dengan sebaik-baiknya. “usaha tidak akan mengkhianati hasil” kalimat yang selalu diutarakan para pejuang skripsi sembari berikhtiar dan berdo'a.

Mahakarya ini penulis persembahkan untuk ilmu pengetahuan dan orang tua, Ibundaku sayang (Ibu Hasmia) dan Bapakku sayang (Bapak Hadarno) yang telah mencurahkan perhatiannya, iringan do'a dalam setiap langkah yang penulis ambil dan segala kebaikan yang tidak bisa dituliskan serta adekku sayang (Nurul Ainunnisa) yang juga menjadi penyemangat penulis dalam menempuh pendidikan strata satu.

Terselesaikannya tugas akhir ini tidak terlepas dari bantuan, dorongan dan dukungan moril berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat penulis menghaturkan terima kasih dan memberikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Mary Selintung, M.Sc selaku Dosen pembimbing I dan Dr. Roslinda Ibrahim, S.P., M.T. selaku Dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktunya untuk mengarahkan penulis dalam melakukan penelitian hingga terslesainya laporan ini membimbing dengan penuh kesabaran dorongan semangat yang sangat memotivasi penulis.
2. Bapak Dr. Ir. Achmad Zubair, M.Sc selaku Dosen penguji I dan Ibu Nurjannah Oktorina, S.T.,M.T. selaku Dosen penguji II yang telah memberikan saran-saran yang mendukung terhadap penelitian dan penyusunan laporan tugas akhir penulis.
3. Bapak Dr. Ir. Muhammad Arsyad Thaha, MT., selaku Dekan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
4. Bapak Prof. Baharuddin Hamzah, ST., M. Arch., Ph. D., selaku Wakil Dekan dan Pembantu Dekan I Fakultas Teknik Univetsitas Hasanuddin.
5. Ibu Dr. Eng. Muralia Hustim, ST., MT., selaku Ketua Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
6. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Teknik Departemen Teknik Lingkungan atas bimbingan, arahan, didikan, dan motivasi yang telah diberikan selama kurang lebih empat tahun berkarir di pendidikan strata satu.
7. Ibu Sumiati dan Kak Olan selaku staf karyawan Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin yang selalu siap membantu dalam pengurusan administrasi penulis selama melaksanakan perkuliahan.
8. Bapak Ahmad Yani selaku laboran Laboratorium Hama dan Penyakit Fakultas Pertanian UNHAS, yang telah membagikan ilmu pengetahuan baru terkat mikrobiologi dan membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
9. Temanku Sasha Sabrina Sabir yang sudah menjadi *partner* penulis dalam beberapa hal utamanya penelitian tugas akhir, yang juga memberikan kesempatan untuk meneliti bersama, telah sabar menerima kelabilan penulis dalam mengambil keputusan selama penelitian.

10. Keluarga Damai, kak ira, kak cia, padila, isna, kak eki, dan ibu kos yang telah memberikan berbagai kebaikan dan semangat selama penulis melakukan penelitian dari awal hingga akhir penelitian.
11. Teman-teman *enviromental* 2016 dan Patron 2017 yang telah memberi warna dikehidupan penulis selama menempuh pendidikan strata satu
12. Hamtaro Tidur, teman-teman kocak yang bersedia mendengarkan keluh kesah dan memberikan bantuan kepada penulis dimasa-masa perkuliahan hingga semester akhir ini, ada Sabda, Chika, Liza, Emaa, Sasha, Kaknisa, Alma, Kakfachmy, Dewi, Nadieh, Sitti Aisyah, Fani dan Wini.
13. Teman-teman pejuang dakwah di Teknik yang disatukan dalam naungan GKM LD Al-Muhandis ukhti Asse, Tiyan, dan Indah yang bersama-sama saling membersamai, menyemangati dalam perjuangan dakwah dan akademik hingga disemester akhir ini, serta adik-adikku di GKM LD Al-Muhandis yang telah memberikan semangat kepada penulis.
14. Teman-teman Lab. Riset Kualitas Air 2016 (pengendali air 2016) yang selalu membantu, mendukung dan menaruh perhatian pada setiap personel, selamat dan semangat berjuang teman-teman.
15. Teman-teman 'AJ' ku yang bersama-sama merantau ke Makassar untuk menempuh pendidikan dan diakhir masa pendidikan strata satupun masih saling menyemangati untuk bersama-sama wisuda di Baruga. ada Diana, Isna, Lily (teman kosku selama 3 tahun), Risma, dan Nuca (duluan sarjana).
16. Sobat-sobat ku Vina, Sulpi, Risma, Firkha, dan Mayya yang sekarang berbeda-beda tempat namun senantiasa berbagi semangat dan cerita bersama penulis
17. Keluarga Cenrana Baru KKN 102 yang memberikan semangat dan dukungan kepada penulis agar segera menyelesaikan penelitian.
18. Kepada rekan-rekan dan berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-satu, penulis ucapkan banyak terima kasih atas setiap bantuan serta doa yang diberikan.

Semoga kebaikan dan dukungan dapat kembali kepada diri yang memberikan dan dalam lindungan Allah subhanahu wa ta'ala. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun, penulis berharap tugas akhir ini memberikan manfaat bagi pembaca. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan guna melengkapi segala kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan tugas akhir ini. Akhir kata semoga tugas akhir ini memberikan manfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan lingkungan.

Gowa, 12 Februari 2021
Penulis,

Hasmila
D121 16 012

ABSTRAK

HASMILA. *Uji Kemampuan Bakteri Lactobacillus Spp. dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen air E-coli dan Salmonella Spp. secara In-Vitro* (dibimbing oleh Mary Selintung dan Roslinda Ibrahim)

Bakteri asam laktat (BAL) memiliki senyawa bakteriosin yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri, salah satunya terdapat pada *Lactobacillus spp.* Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan kemampuan bakteri *Lactobacillus spp* menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella spp* serta mengetahui pengaruh pH terhadap daya hambat BAL. Tahap awal penelitian dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri uji dengan beberapa pengujian antara lain uji morfologi, fisiologi dan biokimia. Tahapan selanjutnya untuk mengetahui kemampuan penghambatan BAL dengan cara uji antagonis secara in-vitro. Karakteristik bakteri *Lactobacillus spp* berdasarkan hasil mengujian yaitu gram positif, katalase negatif, bulat, melengkung, utuh, putih susu, nonmotil dan non spora. Karakteristik bakteri *Escherichia coli* yaitu dengan ciri-ciri gram negatif, bulat, cembung, tepi halus (utuh), motil, aerobik dan anaerobik fakultatif sedangkan bakteri *Salmonella spp.* dengan ciri-ciri gram negatif, bulat, kecil, tidak berwarna, motil. Dari uji daya hambat yang dilakukan menunjukkan adanya antibakteri yang dihasilkan dari bakteri *Lactobacillus spp* dan daya hambat yang dihasilkan tergolong sedang. pH optimum untuk menghasilkan bakteriosin pada penelitian ini yaitu pada pH 7.

Kata kunci : antibakteri, BAL, patogen, uji in-vitro

ABSTRACT

HASMILA. *The Ability Test of bacteria Lactobacillus Spp. in inhibiting the growth of water pathogenic bacteria E-coli and Salmonella Spp. In-Vitro (supervised by Mary Selintung and Roslinda Ibrahim)*

Lactic acid bacteria (LAB) have bacteriocin compounds that function to inhibit bacterial growth, one of which is found in Lactobacillus spp. This study aims to determine the characteristics and abilities of Lactobacillus spp bacteria to inhibit the growth of Escherichia coli and Salmonella spp bacteria and to determine the effect of pH on LAB inhibition. The initial stage of the research was carried out to determine the characteristics of the tested bacteria by several tests including morphological, physiological and biochemical tests. The next step was to determine the LAB inhibition ability by means of an in-vitro antagonist test. The characteristics of Lactobacillus spp bacteria based on the test results are gram positive, catalase negative, round, curved, whole, milky white, nonmotile and non spore. The characteristics of Escherichia coli are gram-negative, round, convex, smooth (intact), motile, aerobic and facultative anaerobic while Salmonella spp. with the characteristics of gram-negative, round, small, colorless, motile. From the inhibitory power test conducted, it showed the presence of antibacterials produced from Lactobacillus spp and the resulting inhibition was classified as moderate. The optimum pH to produce bacteriocin in this study is at pH 7.

Key words: Antibacterial, LAB, Pathogens, In-vitro test

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
E. Ruang Lingkup.....	4
F. Sistematika Penulisan	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri.....	6
1. Klasifikasi bakteri.....	6
2. Pertumbuhan bakteri.....	7
3. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.....	10
B. Sifat-Sifat Koloni Mikroorganisme.....	13
C. Bakteri Asam Laktat	16

D. Bakteri Uji.....	18
1. Bakteri <i>Lactobacillus spp.</i>	19
2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	20
3. Bakteri <i>Salmonella spp.</i>	21
E. Bakteriosin	22
F. Uji Daya Hambat	23

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian.....	16
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	27
C. Alat dan Bahan.....	27
1. Alat	27
2. Bahan.....	27
D. Populasi dan Sampel	28
E. Pelaksanaan Penelitian	28
1. Tahap Persiapan.....	28
2. Pembuatan Media	28
3. Isolasi bakteri.....	30
4. Pemurnian dan penyimpanan kultur bakteri.....	30
5. Pengamatan uji morfologi	31
6. Pengamatan uji fisiologi dan biokimia	31
7. Uji antagonis secara <i>In-Vitro</i>	33
G. Teknik pengumpulan data.....	35
H. Teknik Analisis	35
I. Diagram Alir Penelitian	35

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Bakteri	38
1. Karakteristik bakteri <i>Lactobacillus spp.</i> bahan pangan.....	48
2. Karakteristik Bakteri <i>Escherchia Coli</i> dan <i>Salmonella spp.</i> dari air hujan..	43
B. Uji Kemampuan Bakteri <i>Lactobacillus Spp.</i> Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen	55

C. Pengaruh pH Media Terhadap Kemampuan Penghambatan Bakteri <i>Lactobacillus spp.</i> Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Esherichia Coli</i> dan <i>Salmonella spp.</i>	59
---	----

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	62
B. Saran	63

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

No	Hal.
1. Variasi variabel.....	26
2. Variasi perlakuan bakteri uji antagonis.....	27
3. Jumlah koloni bakteri hasil isolasi dari tape ubi dan <i>yogurt</i>	40
4. Hasil uji morfologi bakteri asam laktat.....	42
5. Hasil uji biokimia dan fisiologi bakteri asam laktat.....	42
6. Jumlah koloni bakteri hasil isolasi dari air hujan.....	50
7. Hasil uji morfologi bakteri patogen.....	51
8. Hasil uji fisiologi dan biokimia bakteri patogen.....	52
9. Hasil pengukuran zona hambat bakteri (dalam mm).....	56
10. Hasil pengukuran zona hambat bakteri dengan pH berbeda (dalam mm).....	61

DAFTAR GAMBAR

No	Hal.
1.	Kurva pertumbuhan mikroorganisme dengan fase-fase pertumbuhannya 10
2.	Bentuk-bentuk koloni 14
3.	Bentuk-bentuk permukaan koloni 14
4.	Bentuk tepi koloni 14
5.	Penampakan bakteri dalam agar miring 15
6.	Penampakan bakteri dalam tusukan gelatin (yang terencerkan) 16
7.	Penampakan bakteri dalam tusukan gelatin diencerkan 16
8.	Bentuk-bentuk koloni 32
9.	Bentuk-bentuk permukaan koloni 32
10.	Bentuk tepi koloni 32
11.	Tampak atas media uji untuk daya hambat bakteri 35
12.	Diagram alir penelitian 38
13.	(a) Isolat bakteri hasil isolasi tape ubi, (b) Isolat bakteri hasil isolasi <i>Yogurt</i> 40
14.	Pemurnian bakteri asam laktat dengan metode gores (<i>Streak Plate Method</i>) 41
15.	Reaksi negatif, tidak terbentuk lendir pada preparat 43
16.	(a) reaksi negatif, tidak ada gelembung pada preparat. (b) reaksi positif, ada gelembung pada preparat..... 44
17.	Hasil uji motilitas isolat dari tape ubi dan <i>yogurt</i> 45
18.	Hasil uji pertumbuhan pada pH 9.6 47
19.	Isolat TU3 dilihat dari mikroskop perbesaran 100x 48
20.	Isolat bakteri hasil isolasi air hujan 49
21.	Pemurnian bakteri patogen dengan metode gores 51
22.	Reaksi positif, terbentuk lendir pada preparat 52
23.	(a) reaksi negatif, tidak ada gelembung pada preparat. (b) reaksi positif, ada gelembung pada preparat..... 52

24. Hasil uji motilitas isolat air hujan.....	53
25. Hasil uji anarobik.....	54
26. Tampak dari atas zona bening disekitar <i>paper disk</i>	57
27. Pertumbuhan patogen sebelum adanya perlakuan bakteri antagonis	57
28. Persen pertumbuhan Bakteri.....	57
29. Tampak atas masing-masing perlakuan uji daya hambat pada pH yang berbeda pada perlakuan B2S.....	59
30. Grafik hasil uji daya hambat bakteri <i>lactobacillus spp</i>	60

DAFTAR LAMPIRAN

No

1. Alat dan Bahan Praktikum
2. Isolasi Bakteri Dari Tape Ubi, *Yogurt*, Dan Air Hujan
3. Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Bahan Pangan dan Bakteri Patogen dari Air Hujan
4. Cara hitungan cawan digunakan suatu standar yang disebut Standard Plate Counts (SPC)
5. Mekanisme Uji Antagonis Dengan Metode Difusi
6. Dokumentasi Hasil Uji Antagonis
7. Dokumentasi Kegiatan

BAB I

PENDAHULAN

A. Latar Belakang

Pesatnya pertumbuhan penduduk menyebabkan kebutuhan air bersih juga meningkat. Air menjadi bagian yang tak terpisahkan bagi kehidupan, segala aktivitas yang dilakukan membutuhkan air. Berbagai cara dilakukan agar cadangan air bersih mampu mencukupi kebutuhan setiap individu mulai dari penggunaan air permukaan hingga air tanah. Karena tidak didukungnya *suplay* air bersih dari PDAM (Perusahaan Daerah Air Minum) di beberapa daerah, maka masyarakat pun mengambil langkah untuk menggunakan sumber air alternatif. Salah satu sumber air alternatif yang digunakan yaitu air hujan. Air hujan di Indonesia sangatlah melimpah. Seperti yang diketahui Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki curah hujan yang cukup tinggi.

Berdasarkan pada meteorologi dan karakteristik geografis pemanenan air hujan, curah hujan tahunan di Indonesia mencapai 2263 mm yang cenderung terdistribusi secara merata sepanjang tahun tanpa ada perbedaan yang mencolok antara musim hujan dan musim kemarau (Song et al., 2009 dalam Yulistyorini, 2011). Sehingga air hujan merupakan sumber air alternatif yang tepat dan perlu untuk dikembangkan.

Kualitas air hujan umumnya cukup tinggi dan cukup baik digunakan sebagai sumber air bersih. Namun, pada saat pemanenan air, air hujan yang bersinggungan dengan atap rumah atau media akan membawa kontaminan baik fisik, kimia, maupun mikroorganisme. Pada peraturan MenKes RI NO. 32 tahun 2017 tentang standar baku mutu kesehatan air untuk keperluan *higiene* sanitasi, kolam renang, *solus per aqua* dan permandian umum, untuk kebutuhan air bersih maksimum total *coliform* yaitu 50 CFU/100 ml dan untuk *E-coli* maksimum 0 CFU/100 ml. Sehingga perlu pengolahan untuk menurunkan jumlah bakteri patogen dalam air hujan. Bakteri patogen adalah yang mampu menyebabkan

penyakit. Menurut Nusa (2005), *Patogenisitas (pathogenicity)* adalah kemampuan dari suatu perantara atau agen yang bersifat infeksius yang dapat menyebabkan penyakit terhadap inangnya (*host*).

Salah satu alternatif pengolahan air yang terkontaminasi bakteri patogen adalah menggunakan mikroba yang bermanfaat bagi kehidupan manusia salah satunya yaitu bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat biasanya banyak terdapat dalam makanan dan minuman fermentasi. BAL merupakan bakteri yang tergolong gram positif yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia salah satunya pengembangan teknologi dibidang teknik lingkungan.

Di beberapa penelitian disebutkan bahwa BAL mampu menghambat bakteri patogen. Hamidah (2019) mengatakan BAL menghasilkan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lainnya sehingga berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa yang berasal dari bakteri asam laktat yaitu bakteriosin, hydrogen peroksida, maupun karbondioksida. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri asam laktat memiliki kekuatan antibakteri yang berbeda tergantung dari jenis sampelnya.

Lactobacillus plantarum dan *Lactobacillus casei* merupakan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai *biopresevatif* karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan perusak. *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan daya hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan dari *Lactobacillus plantarum* yaitu *plantaricin* (Fardiaz, 1992 dalam Usman, 2018).

Dikarenakan bakteri asam laktat memiliki senyawa bakteriosin yakni senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan bakteri dari golongan bakteri asam laktat dari makanan fermentasi untuk menghambat bakteri patogen dengan judul : **“Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus spp.* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen Air *E-Coli* dan *Salmonella spp.* secara *In-Vitro*”**

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik bakteri *Lactobacillus spp.* dari bahan pangan dan karakteristik bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*) dari air hujan
2. Seberapa besar kemampuan bakteri *Lactobacillus spp.* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*
3. Bagaimana pengaruh pH media terhadap kemampuan penghambatan bakteri *Lactobacillus spp.* terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui karakteristik bakteri *Lactobacillus spp.* dari bahan pangan dan karakteristik bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*) dari air hujan
2. Untuk mengetahui seberapa besar kemampuan bakteri *Lactobacillus spp.* terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*
3. Untuk mengetahui pengaruh pH media terhadap kemampuan penghambatan bakteri *Lactobacillus spp.* terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini diantaranya adalah:

1. Manfaat bagi Departemen Teknik Lingkungan
Menjadi referensi baru mengenai Mikrobiologi khususnya di Laboratorium Kualitas Air Teknik Lingkungan Universitas Hasanuddin.
2. Manfaat bagi masyarakat
Dapat membuktikan secara ilmiah dan memberikan informasi kepada masyarakat potensi BAL sebagai antibakteri untuk menghambat bakteri

perusak. Dapat dikembangkan sebagai metode pengolahan air secara biologi. Dan dapat menjadi rujukan bagi peneliti-peneliti berikutnya ataupun sebagai bahan perbandingan dari penelitian selanjutnya.

3. Manfaat bagi peneliti

Sebagai pemenuhan Tugas Akhir dalam jenjang perguruan tinggi strata pertama dan pengembangan kemampuan dari ilmu yang telah didapat.

E. Ruang Lingkup

Adapun batasan-batasan dalam penelitian, yaitu:

1. Bakteri asam laktat yang diuji berasal dari makanan fermentasi yaitu tape ubi dan/atau *yogurt*
2. Bakteri patogen yang diuji bersumber dari bakteri yang terkandung dalam air hujan dari atap Gedung Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin
3. Identifikasi bakteri dilakukan untuk menghasilkan bakteri asam laktat dan bakteri patogen yang diinginkan (bakteri *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*)
4. Pengujian akhir yaitu uji antagonis dari bakteri asam laktat dengan variasi pH (5, 7, 9) pada suhu yang sama secara *In-Vitro* untuk mengetahui kemampuan daya hambatnya (zona bening) terhadap bakteri patogen pada media NA.

F. Sistematika Penulisan

Penulisan laporan penelitian tugas akhir ini terdiri dari beberapa bab dimana masing-masing bab membahas masalah tersendiri, selanjutnya sistematika laporan ini sebagai berikut :

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini merupakan bab pertama tugas akhir yang isinya mengantar pembaca tentang apa, mengapa dan untuk apa suatu topik diteliti. Dengan demikian, bab ini terdiri atas latar belakang, rumusan masalah, tujuan dan manfaat penelitian, ruang lingkup, dan diakhiri dengan sistematika penulisan

BAB II LANDASAN TEORI

Tinjauan pustaka berisi referensi terbaru, relevan, asli dan menguraikan teori umum yang mendasar masalah yang diteliti. Tinjauan pustaka menimbulkan gagasan penelitian yang dilakukan. Tinjauan pustaka menguraikan teori, temuan, dan bahan penelitian lain yang diarahkan untuk menyusun kerangka pemikiran/konsep yang akan digunakan pada penelitian

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi penelitian menjelaskan tentang rencana penelitian, waktu dan lokasi penelitian, bahan dan alat, populasi dan sampel, teknik pengumpulan data, dan teknik analisis.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Menyajikan data-data hasil penelitian yang telah dikumpulkan, analisis data, hasil analisis data dan pembahasannya.

BAB V PENUTUP

Berisikan kesimpulan menyeluruh dari hasil serta saran-saran untuk perbaikan atau aspek lain yang perlu dikaji lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang bersel satu, berkembang biak dengan cara membelah diri dan hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop karena bentuknya yang kecil (Dwijosaputro, 1988 *dalam* Ramadhan, 2015). Menurut Djide, (2016) bakteri merupakan mikroorganisme yang bersifat uniseluler yang termasuk kelas *schizimycetes*. Pada umumnya bakteri tidak mempunyai klorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksual dengan cara pembelahan baik transversal maupun binner.

Sifat-sifat bakteri diantaranya ada yang hidup bebas, parasitik, saprofit atau sebagai patogen pada manusia, hewan dan tumbuh-tumbuhan, beberapa diantaranya bersifat fotosintetik.

1. Klasifikasi bakteri

Berdasarkan bentuk morfologinya, maka bakteri dapat dibagi atas tiga bagian (Pratiwi, 2008) yaitu:

a. Bentuk basil

Basil dari kata *bacillus*, merupakan bakteri yang bentuknya menyerupai batang atau silinder, membelah dalam satu bidang, basil dapat berupa batang tunggal, berpasangan atau bentuk rantai pendek atau panjang. Bentuk basil ini dapat dibedakan atas:

- 1) Bentuk tunggal, yaitu basil yang terlepas satu sama lain dengan ujung-ujungnya yang tumpul
- 2) Diplobasil, yaitu basil yang bergandengan dua-dua dengan ujung-ujungnya yang tumpul
- 3) Streptobasil, yaitu basil yang bergandeng-gandengan panjang dengan ujung-ujungnya yang tumpul.

b. Bentuk kokus

Kokus adalah bakteri yang berbentuk bulat atau oval, ada yang hidup sendiri dan ada yang dijumpai hidup berpasangan, kubus atau berbentuk rantai panjang, bergantung pada caranya membelah diri kemudian melekat satu sama lain setelah pembelahan. Bentuk kokus ini dapat dibedakan atas:

- 1) Diplokokus, yaitu kokus yang bergandengan dua-dua
- 2) Tetrakokus, yaitu kokus yang mengelompok berempat
- 3) Stapilakokus, yaitu kokus yang mengelompok merupakan suatu untaian
- 4) Streptokokus, yaitu kokus yang bergandeng-gandengan panjang seperti rantai
- 5) Sarsina, yaitu kokus yang mengelompok seperti kubus

c. Bentuk spiral

Kelompok bakteri ini terdiri dari beraneka ragam bentuk bakteri berbentuk silinder, yang bukan lurus seperti basil melainkan melinkar. Bakteri berbentuk spiral ini dibedakan menjadi beberapa jenis antara lain :

- 1) Vibrio, yaitu bakteri yang berbentuk batang melengkung menyerupai koma, ada yang tumbuh sebagai benang-benang membelit atau membentuk 's'
- 2) Spiril, yaitu dari kata spirillum yang menyerupai spiral atau lilitan yang sebenarnya
- 3) Spirochaeta, yaitu merupakan bakteri spiral, tetapi bakteri ini memiliki spiril yang bersifat fleksibel (mampu melenturkan dan melekkukan tubuhnya sambil bergerak).

2. Pertumbuhan bakteri

Selang waktu yang dibutuhkan bakteri (sel) untuk membelah diri disebut waktu generasi. Tidak semua spesies bakteri memiliki waktu generasi yang sama untuk berkembangbiak. Waktu generasi ini juga tidak akan sama pada setiap kondisi lingkungan. Hal ini sangat bergantung pada cukup tidaknya nutrient serta sesuai tidaknya kondisi lingkungan bakteri.

Fase pertumbuhan mikroorganisme menurut Djide, (2016) dapat dibagi sebagai berikut :

b. Fase permulaan

Mikroorganisme pada fase ini melakukan penyesuaian diri dengan lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara yang dibentuk pada fase ini, sehingga akan mungkin terjadinya pertumbuhan yang lebih lanjut. Sel-sel pada fase ini mula membesar, tetapi belum terjadi pembelahan sel.

c. Fase pertumbuhan yang dipercepat

Mikroorganisme pada fase ini mulai melakukan pembelahan sel, namun waktu generasinya masih panjang. Pada fase ini bersama fase permulaan bisa disebut juga sebagai “lag phase” atau “phase of adjusment”. Menurut Putri (2017) fase lag dapat berlangsung selama 5 menit sampai beberapa jam karena bakteri tidak akan segera membelah diri tetapi mengalami periode adaptasi, dengan sejumlah aktivitas metabolik.

d. Fase pertumbuhan logaritma

Mikroorganisme pada fase ini mengalami pertumbuhan paling cepat, waktu generasi pendek dan konstan. Selama fase ini metabolisme paling cepat dan pesat, sehingga sintesa bahan sel sangat cepat dan konstan. Keadaan tersebut berlangsung hingga salah satu atau beberapa nutrisi habis atau telah terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun sehingga mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme terhambat. Panjang pendeknya waktu generasi mikroorganisme pada fase ini bergantung pada spesiesnya.

e. Fase pertumbuhan mulai terhambat

Pertumbuhan mikroorganisme pada fase ini mula terhambat, ini disebabkan adanya pengurangan nutrisi dan mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, juga terjadi perubahan lingkungan. Jika dilakukan penambahan nutrisi atau penetralan racun-racun pada keadaan ini, maka fase logaritma dapat diperpanjang.

f. Fase stasioner atau fase konstan

Adanya pengurangan nutrisi dan adanya penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, maka kecepatan pertumbuhan dan perbanyakan mikroorganisme akan terlambat. Selain itu mikroorganisme yang mati semakin meningkat, sehingga jumlahnya sama dengan mikroorganisme yang hidup. Panjang pendeknya fase ini sangat tergantung pada kepekaan mikroorganisme dalam menghadapi faktor-faktor pertumbuhan serta perubahan yang berlangsung dalam mediumnya. Semakin peka bakteri maka semakin pendek pula fase stasionernya.

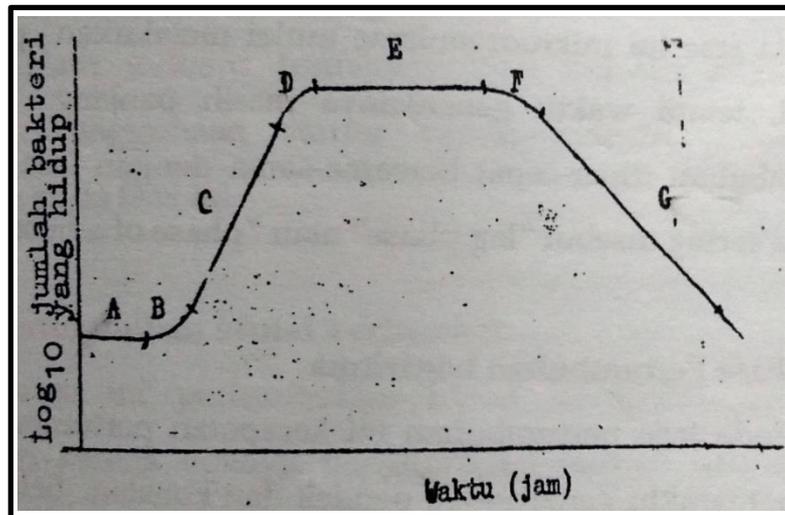
Menurut Waluyo, (2004) dalam jangka waktu yang lama jarang populasi bakteri tumbuh secara eksponensial dengan kecepatan yang tinggi. Setelah 48 jam, pertumbuhan eksponensial bakteri dengan waktu pembelahan 20 menit dapat menghasilkan $2,2 \times 10^{31}$ bakteri. Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya nutrisi yang tersedia, mengakibatkan kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan akhirnya terhenti, fase ini dikatakan sebagai fase tetap (*stationary phase*). Komposisi sel-sel pada fase ini berbeda dengan fase pertumbuhan eksponensial dan umumnya lebih tahan terhadap perubahan panas, dingin maupun radiasi.

g. Fase kematian yang dipercepat

Mikroorganisme pada fase ini kematiannya semakin meningkat sedangkan kecepatan pembelahannya nol.

h. Fase kematian logaritma

Mikroorganisme pada fase ini mengalami kecepatan kematian yang maksimum. Jumlah selnya menurun menurut deret ukur, tetapi penurunan jumlah tersebut akan mencapai keadaan yang minimum. Secara teoritis keadaan ini dapat bertahan untuk waktu yang sangat lama dalam media tersebut, tergantung spesiesnya.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroorganisme dengan fase-fase pertumbuhannya

Sumber : Djide, 2016

3. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

a. Nutrisi

Semua makhluk hidup memerlukan bahan makanan untuk keperluan hidupnya. Bahan makanan ini diperlukan untuk mendapatkan energi. Demikian juga dengan mikroorganisme, untuk hidupnya membutuhkan energi dari lingkungannya. Bahan tersebut dinamakan nutrisi (zat gizi) (Waluyo, 2004).

Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, sulfur, zat besi dan sejumlah kecil logam-logam lainnya. Kekurangan sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian (Gaman, 1992 *dalam* Ramadhan, 2015).

Perkembangbiakan mikroorganisme membutuhkan media yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai bagi mikroorganisme. Media dapat dibagi berdasarkan (Lay, 1994 *dalam* Ramadhan, 2015):

- 1) Konsistensinya
 - a) Media padat
 - b) Media cair
 - c) Media semi padat

Media padat diperoleh dengan menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang merah. Agar digunakan sebagai bahan pematat karena tidak dapat diuraikan oleh mikroorganisme dan membeku pada suhu dibawah 45°C. kandungan agar sebagai bahan pematat dalam media adalah 1,5-2 %.

- 2) Sumber bahan baku yang digunakan
 - a) Media sintetik, bahan baku yang digunakan merupakan bahan kimia atau bahan yang bukan berasal dari alam. Pada media sintetik kandungan dan isi bahan yang ditambahkan diketahui secara terperinci.
 - b) Media nonsintetik, menggunakan bahan yang terdapat dialam biasanya tidak diketahui kandungan kimianya secara terperinci. Contoh : ekstrak daging, pepton, ekstrak ragi, dan kaldu daging.
- 3) Berdasarkan fungsinya
 - a) Media selektif, yaitu media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi.
 - b) Media differensial, yaitu media untuk membedakan kelompok mikroorganisme tertentu yang tumbuh pada media biakan. Bila berbagai kelompok mikroorganisme tumbuh pada media differensial maka dapat dibedakan kelompok mikroorganisme berdasarkan perubahan pada media biakan atau penampilan koloninya.
 - c) Media diperkaya, yaitu dengan menambahkan bahan-baahan khusus pada media untuk menumbuhkan mikroba yang khusus.

b. Temperatur

Bakteri sangat peka terhadap suhu atau temperatur dan daya tahannya tidak sama untuk semua spesies. Bakteri dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan suhu pertumbuhan yang diperlukan sebagai berikut:

- 1) Bakteri *psikrofil* , yaitu mikroorganisme yang dapat hidup baik pada suhu 0-20°C dengan suhu optimumnya adalah 10-20°C. kebanyakan golongan ini tumbuh ditempat dingin.

- 2) Bakteri *mesofil*, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup dengan baik pada suhu 5-60°C dan memiliki suhu pertumbuhan optimal antara 20-45°C. umumnya mikroba ini tumbuh pada saluran pencernaan.
- 3) Bakteri *termofil*, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup dengan baik pada suhu 45-80°C. suhu tumbuh optimumnya antara 50-60°C, mikroba ini utamanya ditemukan pada tempat dengan temperatur tinggi.

c. Oksigen

Empat kelompok mikroorganisme dibedakan berdasarkan kebutuhan gas oksigen (Waluyo, 2009), antara lain :

- 1) Aerob obligat yaitu bakteri yang hanya tumbuh bila ada oksigen.
- 2) Organisme Mikroaerofilik yaitu yang dapat tumbuh optimal dengan konsentrasi oksigen yang rendah.
- 3) Aerob fakultatif dan anaerob fakultatif yaitu bakteri yang dapat tumbuh bila ada atau tidak ada oksigen.
- 4) Anaerob obligat, yaitu hanya dapat tumbuh bila tanpa oksigen; oksigen bersifat toksik pada kelompok tersebut; hidrogen peroksida mengumpul akibat kekurangan sitokrom dan enzim katalase.

d. pH

Pertumbuhan bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun umumnya bakteri memiliki jarak pH sekitar 6,5-7,5 atau netral (Waluyo, 2004). Untuk tiap mikroorganisme dikenal nilai pH minimum, optimum, dan maksimum.

Berdasarkan lingkungan pH bagi kehidupan mikroba, dibedakan menjadi tiga golongan besar (Suriawira, 2015) yaitu:

- 1) mikroba asidofilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 2,0-5,0
- 2) mikroba netrofilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 5,5-8,0
- 3) mikroba alkalifilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 8,7-9,5

B. Sifat – Sifat Koloni Mikroorganisme

Sifat yang dimaksudkan dari sifat koloni suatu mikroorganisme adalah sifat-sifat yang menyangkut dengan bentuk, susunan, permukaan, pengkilatan dan

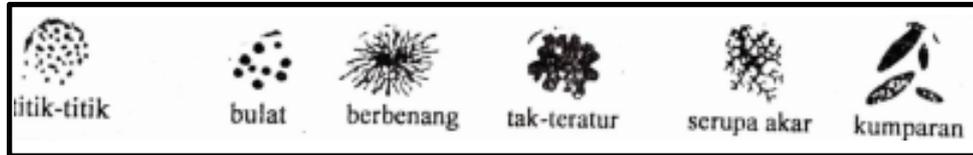
sebagainya dari koloni mikroorganisme. Pengamatan tentang sifat-sifat ini dapat dilakukan dengan pandangan biasa, yaitu tidak perlu menggunakan alat pembesar seperti mikroskop, pengamatan semacam ini disebut pengamatan makroskopik.(Djide, 2016).

Menurut Irianto, (2006) Sifat – sifat yang perlu diperhatikan pada koloni yang tumbuh di permukaan medium ialah:

1. Besar kecilnya koloni, dilihat dari koloni yang hanya serupa suatu titik, ada pula yang melebar sampai menutup permukaan medium.
2. Bentuk, dilihat dari koloni yang bulat, ada yang memanjang, ada yang tepinya rata, ada yang tepinya tidak rata.
3. Kenaikan permukaan, dilihat dari koloni yang rata saja dengan permukaan medium, ada pula yang timbul, yaitu menjulang tebal diatas permukaan medium.
4. Halus-kasarnya permukaan, dilihat dari koloni yang permukaannya halus saja, ada yang permukaannya kasar, tidak rata.
5. Wajah permukaan, dilihat dari koloni yang permukaannya mengkilat, ada yang permukaannya suram.
6. Warna, Kebanyakan koloni bakteri berwarna keputihan atau kekuning-kuningan, akan tetapi ada juga koloni yang kemerah-merahan, coklat, jingga, biru, hijau, dan ungu.
7. Kepekatan, dilihat dari koloni yang lunak seperti lendir, ada yang lunak seperti mentega, ada yang keras dan kering.

Sifat-sifat koloni pada agar lempengan mengenai bentuk, permukaan dan tepi, bentuk koloni dilukiskan sebagai titik-titik, bulat, berbenang, tak teratur, serupa akar, serupa kumparan. Permukaan koloni dapat datar, timbul mendatar, timbul melengkung, timbul mencembung, timbul membukit, timbul berkawah. Tepi koloni ada yang utuh, ada yang berombak, ada yang berbelah-belah, ada yang bergerigi, ada yang berbenang-benang, ada yang keriting. Berdasarkan hal tersebut diatas , perhatikan gambar 2 – 4 berikut.

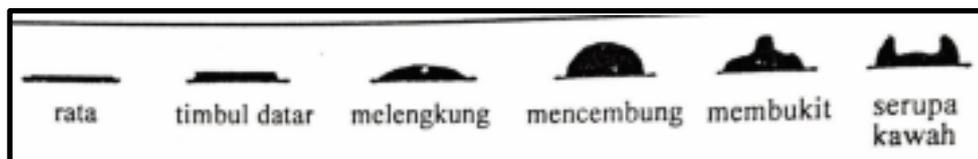
1. Sifat koloni, dilihat dari atas



Gambar 2. Bentuk-bentuk koloni

Sumber: Dwidjoseputro, 2005

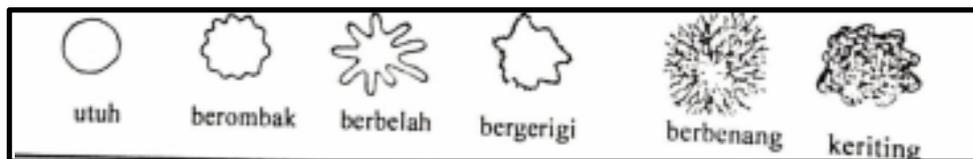
2. Permukaan koloni, dilihat dari samping



Gambar 3. Bentuk-bentuk permukaan koloni

Sumber: Dwidjoseputro, 2005

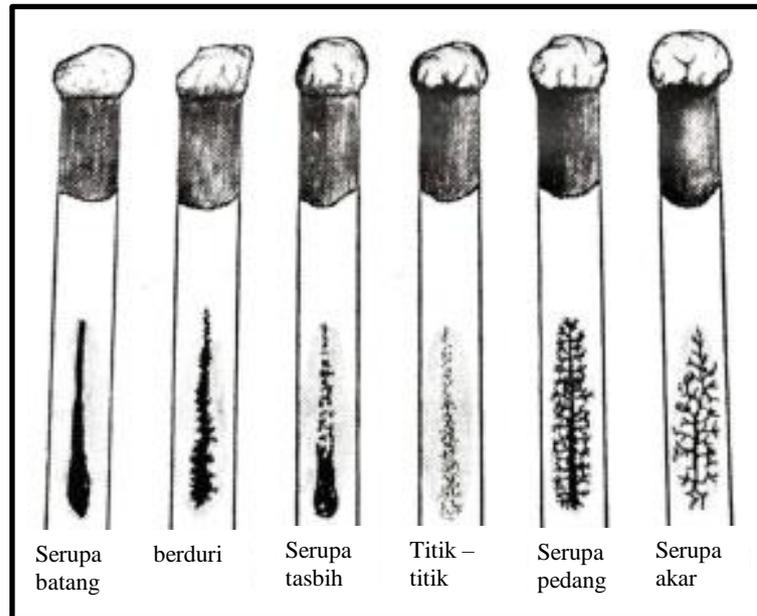
3. Tepi koloni, dilihat dari atas



Gambar 4. Bentuk tepi koloni

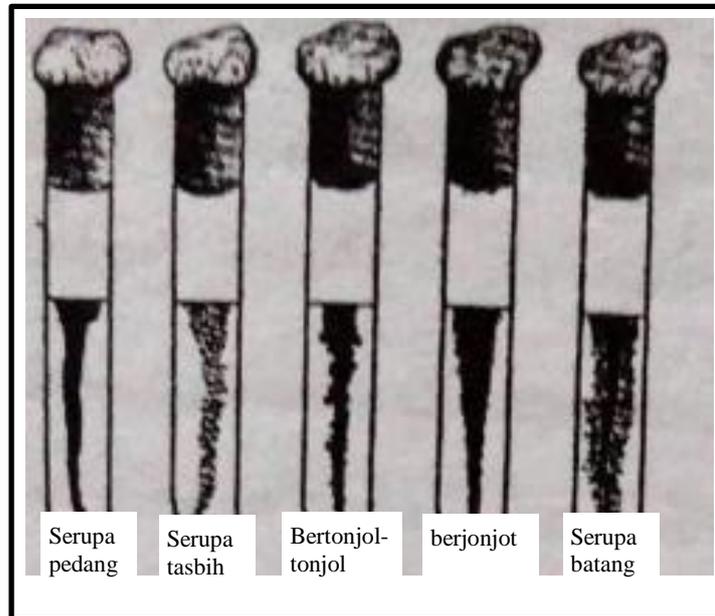
Sumber: Dwidjoseputro, 2005

Sifat-sifat koloni pada agar miring. Sifat-sifat ini berkisar pada bentuk dan tepi koloni. Sifat-sifat ini dapat dinyatakan dengan serupa pedang, serupa duri, serupa tasbih, serupa titik-titik, serupa batang, adan serupa akar. Berdasarkan hal tersebut diatas , perhatikan gambar 5 berikut.



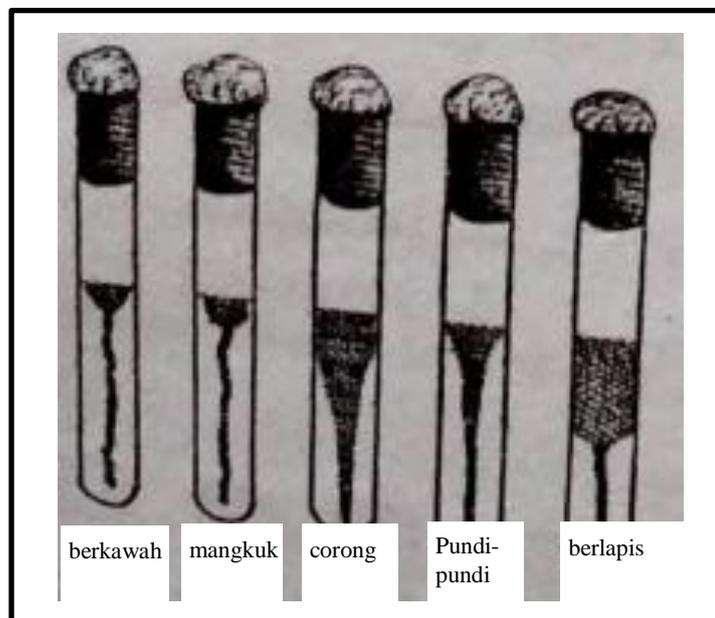
Gambar 5. Penampakan bakteri dalam agar miring
Sumber: Dwidjoseputro, 2005

Sifat-sifat koloni tusukan dalam gelatin. Ada bakteri yang dapat mengencerkan gelatin, ada juga bakteri yang tidak mampu mencemarkan gelatin, ada juga bakteri yang tidak mengencerkan gelatin. Karena itu, maka bentuk-bentuk koloninya juga berbeda-beda. Lagi pula bentuk koloni bakteri yang tidak dapat mengencerkan gelatin itu berbeda-beda satu sama lain, demikian pula bentuk koloni yang dapat mengencerkan gelatin. Bila dilihat dari samping, maka bentuk-bentuk koloni yang tidak mengencerkan gelatin, dapat serupa pedang, serupa tasbih, bertonjol-tonjol, berjonjot, serupa batang. Jika bakteri mampu mengencerkan gelatin, maka bentuk koloninya dapat serupa pundi-pundi, berlapis. Berdasarkan hal tersebut diatas, perhatikan gambar 6 berikut.



Gambar 6. Penampakan bakteri dalam tusukan gelatin (yang terencerkan)

Sumber: Djide, 2016



Gambar 7. Penampakan bakteri dalam tusukan gelatin diencerkan

Sumber: Djide, 2016

C. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat atau disingkat BAL merupakan sekelompok bakteri Gram positif yang memiliki kesamaan karakteristik secara morfologi, metabolik, dan fisiologis. Golongan bakteri ini adalah tidak berspora, sel berbentuk bulat atau batang dan memproduksi asam laktat sebagai hasil akhir utama proses fermentasi karbohidrat (Axelsson, 2004 dalam Hurry, 2010). Menurut Carr, (2002) dalam Agus, (2016) bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk batang atau bulat, tidak membentuk spora, fermentasi fakultatif anaerob, tidak mempunyai sitokrom, tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat dan memanfaatkan laktat, oksidasi negatif, katalase negatif, motilitas negatif dan kemampuan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat.

Menurut sejarah, Genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* merupakan awal dan inti dari kelompok BAL. Pada perkembangan selanjutnya, terjadi revisi taksonomi dan muncul genus baru hingga saat ini terdapat sekitar 20 genus. Namun, genus-genus yang penting dalam sudut pandang teknologi pangan yaitu *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Genus *Bifidobacterium* sering dianggap memiliki sifat tipikal yang sama dengan BAL asli padahal berbeda secara filogenetik dan keunikannya dalam memfermentasi gula (Axelsson, 2004 dalam Hurry, 2010). *Lactobacillus* merupakan BAL yang berbentuk batang, sedangkan *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* dan *Streptococcus* berbentuk kokus (bulat) (Todar. K, 2012 dalam Putri, 2018).

Starter yang sering digunakan pada produk fermentasi merupakan bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan bertahan hidup dalam saluran pencernaan serta dapat menekan pertumbuhan bakteri perusak dan patogen. Peran utama bakteri ini adalah untuk mengawetkan bahan makanan dengan menghasilkan asam laktat, asam asetat, etanol, CO₂, serta bakteriosin (Desmazeaud, 1996 dalam N. A. Usman, 2018). Bakteriosin merupakan senyawa antimikroba yang diproduksi

oleh bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai pengawet alam dalam menghambat bakteri patogen yang berbahaya (Savado, et. al., 2006 dalam N. A. Usman dkk, 2018).

Bakteri asam laktat biasanya banyak terdapat dalam makanan dan minuman fermentasi. Menurut Soeharsono, (2010) dalam pipin Suciati, (2016) mikroba probiotik merupakan bakteri gram positif, contohnya genus *Lactobacillus* dan *bifidobakterium*. Bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik antara lain dari spesies *Lactobacillus* (*Lactobacillus achidophilus*, *Lactobacillus Lactis*, *Lactobaacillus plantarum*), *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium thermopilum*), dan *Streptococcus lactis*. Menurut pipin Suciati, (2016) *Streptococcus thermopilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* tergolong dalam bakteri asam laktat (BAL).

Lactobacilus plantarum dan *Lactobacillus casei* merupakan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai biopresevatif karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan perusak. *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan daya hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan dari *Lactobacillus plantarum* disebut senyawa *plantaricin* (Fardiaz, 1992 dalam N. A. Usman dkk, 2018). Selain itu, *Lactobacillus casei* juga menghasilkan asam laktat yang diperoleh dari fermentasi glukosa dan pembentukan laktat yang bersifat homofermentatif dengan membentuk laktat murni hampir 85% (Farinde, et. al., 2010 dalam N. A. Usman dkk, 2018).

Sifat terpenting dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya untuk merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang sederhana sehingga dihasilkan asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk fermentasi termasuk silase. Produk asam menyebabkan pertumbuhan mikrobia lain yang tidak diinginkan terhambat. Jika dalam suatu bahan terdapat bakteri asam laktat maka bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* akan terhambat pertumbuhannya (Rahayu et al., 2004 dalam Agus, 2016).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang berpotensi sebagai probiotik (Purwandi dan Rahayu, 2003 *dalam* Agus, 2016) ini dapat dibedakan atas 2 kelompok berdasarkan hasil fermentasinya, yaitu:

- a) Bakteri homofermentatif: glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk. Bakteri dalam kelompok ini akan mengubah heksosa menjadi asam laktat dalam jalur Embden-Meyerhof (EM) dan tidak dapat memfermentasikan pentosa atau glukonat, asam laktat menjadi satu satunya produk. Contoh: *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*.
- b) Bakteri heterofermentatif: glukosa difermentasikan selain menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya yaitu etanol, asam asetat dan CO₂. Heksosa difermentasikan menjadi asam laktat, karbon dioksida, dan etanol (atau asam asetat sebagai akseptor elektron alternatif). Pentosa lalu diubah menjadi laktat dan asam asetat. Contoh: *Leuconostoc* dan beberapa spesie *Lactobacillus*.

Bakteri asam laktat dapat diklasifikasikan menjadi dua famili, yaitu *Streptococcaceae* dan *Lactobacillaceae*. Famili dari *Streptococcaceae* terdiri dari bentuk kokus atau bulat telur, terdiri dari genus *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*, sedangkan famili *Lactobacillaceae* merupakan bentuk batang dan anggotanya satu genus yaitu *Lactobacillus*. Masing-masing genus tersebut mempunyai perbedaan kriteria serta toleransi terhadap asam dan basa (Sudarmadji dkk,1989 *dalam* Agus, 2016).

D. Bakteri Uji

1. Bakteri *Lactobacillus spp.*

Berikut klasifikasi bakteri *Lactobacillus spp.*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Family : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Spesies : *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*

Genus *Lactobacillus* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, dengan ciri warna koloni putih susu atau krem, koloni bundar, berukuran 0.5-1.2 x 0.5-1.5 μm dan tidak bergerak (nonmotil) Putri, 2018. Secara umum, bakteri asam laktat *Lactobacillusi* mempunyai karakteristik gram positif, katalase negatif, acid-toleran, nonspora, kandungan G + C rendah, bentuk sel rods atau *coccobacilli*, aero toleran, atau anaerobik dan fastidious (Claesson dkk., 2007 dalam Widowati, 2014). Menurut Tagg (1976) dalam Widowati, (2014) pH optimum pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* yaitu pH 6,5. Menurut Utami, (2013) pertumbuhan optimum bagi *Lactobacillus* terjadi pada suhu 35-40° namun ia dapat mentoleransi suhu hingga 45°C dengan pH optimum pertumbuhannya antara pH 5,5-6.

Lactobacillus plantarum dan *Lactobacillus casei* merupakan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai biopresevatif karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan perusak. *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan daya hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan dari *Lactobacillus plantarum* yaitu *plantaricin* (Fardiaz, 1992 dalam Usman, 2018). Selain itu, *Lactobacillus casei* juga menghasilkan asam laktat yang diperoleh dari fermentasi glukosa dan pembentukan laktat yang bersifat homofermentatif dengan membentuk laktat murni hampir 85% (Farinde, et. al., 2010 dalam Usman, 2018)

2. Bakteri *Escherichia coli*

Berikut klasifikasi *Escherichia coli* :

Divisi : *protohyta*

Kelas : *Schizomycetes*

Ordo : *Eubacterales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : Escherichia coli

E-coli merupakan bakteri gram negatif dari famili *Enterobacteriaceae* yang hidup dalam usus kolon manusia dan usus hewan berdarah panas. Bakteri ini tidak berspora berbentuk basil dengan diameter 0,5µm dan panjang 1,0 – 3,0 µm dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. Bakteri ini dapat memfermentasi laktosa dan mampu memproduksi indol toxin yang dapat menyebabkan diare. E-coli mempunyai periplasma single layer dengan peptidoglikan, bergerak menggunakan peritrichous flagella dan hidup baik pada suhu 15 – 48°C dengan pH 5,5 - 8,0. (Welch, 2006 dalam Ramadhan 2015).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm. Lebar 0,4-0,7 µm dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz et al., 1995 dalam Kusuma, 2010). Menurut Irianto, (2006) ciri-ciri *Escherichia coli* yaitu batang gram negatif, motil, aerobik dan anaerobik fakultatif, menghasilkan gas dan asam dalam kaldu laktosa, dijumpai di dalam usus bagian bawah.

Pada media EMB digunakan untuk proses isolasi dan identifikasi pada bakteri enterik atau *Coliform*. Bakteri yang diinokulasikan pada media EMB menghasilkan koloni dengan warna hijau metalik yang merupakan bakteri *Escherichia coli*, jika memiliki warna pink maka merupakan bakteri *Klebsiella sp* dan *Enterobacter aerogneses* (Brooks et al., 2013 dalam Khakim, 2018).

Menurut Brooks et al (2013) dalam Khakim, (2018) bahwa media EMB mengandung sejumlah laktosa sehingga dapat membedakan golongan bakteri dengan proses fermentasi laktosa, bakteri yang mampu memfermentasi laktosa salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri tersebut mampu memfermentasi laktosa dengan cepat dan memproduksi banyak asam sehingga mampu menghasilkan warna koloni hijau metalik.

3. Bakteri *Salmonella spp.*

Berikut klasifikasi *Salmonella spp.*

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Family : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Salmonella*
Spesies : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*

Salmonella adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang, berukuran 1-3 μm , tidak membentuk spora, bersifat motil dan tumbuh optimum pada suhu 37°C dan pH 6-8 (Parija, 2012 dalam Sari 2018).

Menurut Irianto, 2007 *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora, tidak mempunyai simpai, tanpa fibria, dan mempunyai flagel peritrik, kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum*. Ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm . Besar koloni dalam media perbenihan rata-rata 2-4 mm.

Sifat *Salmonella typhi* antara lain dapat bergerak, tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, memberikan hasil positif pada reaksi fermentasi manitol dan sorbitol, dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, urease, Voges Proskauer, dan reaksi fermentasi sukrosa dan laktosa, *Salmonella typhi* tidak tumbuh dalam larutan KCN, hanya sedikit membentuk gas H₂S, dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa.

Dalam perbenihan agar *Salmonella-Shigella*, agar Endo, dan agar *MacConkey*, koloni *Salmonella* berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna. Pada media *Wilson-Blair agar*, koloni *Salmonella* berwarna hitam.

Salmonella mati pada suhu 56°C dan pada keadaan kering. Dalam air, *Salmonella* dapat bertahan 4 pekan. Bakteri ini hidup subur dalam media yang mengandung garam empedu berkonsentrasi tinggi dan tahan terhadap *brilliant green*, *sodium tetrates*, dan *sodium deoksikolat*. Senyawa-senyawa ini menghambat pertumbuhan bakteri *coliform* sehingga dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* dari tinja dalam media (Irianto, 2007).

E. Bakteriosin

Bakteri asam laktat selain menghasilkan asam laktat dan asam asetat juga mampu memproduksi senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat pertumbuhan mikroba), fungisidal (membunuh kapang), fungistatik (menghambat pertumbuhan kapang), serta germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Kemampuan zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba dapat dipengaruhi berbagai faktor seperti sifat-sifat mikroba (jenis, konsentrasi, umur dan, keadaan mikroba, waktu penyimpanan, konsentrasi zat pengawet, suhu lingkungan, dan sifat fisik maupun kimia dari makanan (kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawa didalamnya) (Fardiaz, 1992 *dalam* Suwayvia, 2017).

Faktor pH seringkali menjadi faktor untuk memilih bahan pengawet yang akan digunakan pada bahan pangan Khususnya bahan pangan hasil peternakan dengan kondisi pH rendah seperti daging sapi, ham, bakso, susu, butter, keju, dan lain-lain. Namun beberapa bakteri patogen dan pembusuk makanan seperti bakteri *E-coli* dan *Staphylacoccus aureus* dapat bertahan hidup pada kondisi pH rendah (asam). Bakteriosin dari *L.plantarum* juga diketahui stabil pada rentang pH 2-8 (Ogunbawo, 2003 *dalam* Suwayvia, 2017). Hal ini karena titik isoelektrik bakteriosin dari *L.pantarum* berada pada 8-9 dimana semakin tinggi nilai pH maka solubilitasnya semakin menurun. Hal ini menjadikan bakteriosin mampu stabil pada pH asam hingga 8 (De vuyst dan vandamme, 1994 *dalam* Suwayvia, 2017).

Secara umum bakteriosin dari bakteri gram positif aktif melawan jenis bakteri gram positif dan gram negatif lainnya (Marshal, 2003 *dalam* Suwayvia, 2017) Mekanisme kemampuan bakteriosin dalam melawan bakteri patogen yaitu melalui penghancuran integritas membran sitoplasma sel target dengan pembentukan pori. Bakteri ini akan menyebabkan kebocoran metabolit bermolekul rendah ataupun

pengusiran tekanan proton, (*proton motive force*, PMF) (Tagg et al., 1995 dalam Suwayvia, 2017).

F. Uji Daya Hambat

Pengujian aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Daerah hambatan yang dapat diamati melalui zona jernih dapat dipastikan bukan berasal dari B2S m-asam organik karena supernatan antibakteri telah dinetralkan dengan larutan NaOH. Surono (2004) dalam Mutmainnah (2015) menjelaskan bahwa beberapa jenis bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri.

Terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen oleh bakteriosin disebabkan karena adanya interaksi elektrostatis bakteriosin yang bermuatan positif dengan lipid membran sitoplasma yang bermuatan negatif. Bagian hidrofobik bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma dengan membentuk pori. Pembentukan pori ini akan menyebabkan kegagalan *proton motive force* (PMF). PMF merupakan proton yang membentuk energi untuk digunakan dalam berbagai aktifitas sel termasuk metabolisme sel bakteri. Oleh karena itu, kegagalan PMF akan menyebabkan kematian sel melalui penghentian semua reaksi yang membutuhkan energi (Chen et al., 2003 dalam Sari, 2016).

Dalam mengetahui bakteriosin pada bakteri digunakan metode uji secara *in vitro*. Pada penelitian pengujian efektifitas ekstrak etanol daun kamboja secara *in vitro*, Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Uji tersebut dilakukan untuk melihat daya kerja antimikrobal ekstrak daun kamboja. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas antibiogram Kirby- Bauer (Lay, 1994 dalam Ikrom dkk, 2014) dan menggunakan metode dilusi. Pada metode difusi parameter yang diamati adalah zona hambat yang terbentuk, yaitu dengan

mengukur diameter zona jernih di sekitar sumur dengan penggaris (Rahman, 2008 dalam Ikrom dkk, 2014).

Pelaksanaan uji daya hambat bakteri dilakukan secara antiseptik dengan metode sumuran. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang berumur kurang dari 18 sampai 24 jam. Bakteri diinokulasikan ke cawan petri yang telah diberi media NA. Setelah itu dibuat lubang dengan diameter ± 6 mm. Ke dalam lubang tersebut diberi larutan control (akuades), ekstrak bawang putih konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan larutan antiseptik komersial sebanyak 50 μ L. Cawan petri diinkubasi pada suhu 35°C selama 20 sampai 24 jam. Daerah bening di sekitar lubang menunjukkan uji positif, kemudian diameter daerah bening di setiap lubang diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran dalam satuan cm (Purwantiningsih, 2019).

Warbung, dkk (2014) dalam Surjowordoyo (2016) rumus untuk menghitung zona hambat adalah sebagai berikut:

$$\frac{d1+d2}{2} - X \quad (1)$$

Keterangan:

d1 = diameter vertikal zona bening pada media.

d2 = diameter horizontal zona bening pada media.

X = Diameter paper disk (6 mm)

Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012) dalam Surjowordoyo (2016) berdasarkan perhitungan luas zona hambat yang diamati pada media, zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut:

- Diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat
- Diameter 11-20 mm dikategorikan kuat
- diameter 6-10 mm dikategorikan sedang
- diameter <5 mm dikategorikan lemah