

**PENGARUH SUHU FERMENTASI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA PEPTIDA
BIOAKTIF BAKTERI *Lactobacillus fermentum* NBRC
15885**

**THE EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE
ON ANTIBACTERIA ACTIVITY OF *Lactobacillus
fermentum* NBRC 15885 BACTERIA**

**SITTI NURKHALISHAH RAMLAN
N111 16 015**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PENGARUH SUHU FERMENTASI TERHADAP
AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA PEPTIDA
BIOAKTIF BAKTERI *Lactobacillus fermentum* NBRC
15885**

**THE EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE
ON ANTIBACTERIA ACTIVITY OF *Lactobacillus
fermentum* NBRC 15885 BACTERIA**

**SITTI NURKHALISHAH RAMLAN
N111 16 015**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



**PENGARUH SUHU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA PEPTIDA BIOAKTIF BAKTERI *Lactobacillus fermentum*
NBRC 15885**

**THE EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE ON ANTIBACTERIA
ACTIVITY OF *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885 BACTERIA**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**SITTI NURKHALISHAH RAMLAN
N111 16 015**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



**PENGARUH SUHU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA PEPTIDA BIOAKTIF DARI BAKTERI *Lactobacillus*
fermentum NBRC 15885**

THE EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE ON ANTIBACTERIAL
ACTIVITY OF PEPTIDE BIOACTIVE COMPOUND FROM *Lactobacillus*
fermentum NBRC 15885

SITTI NURKHALISHAH RAMLAN

N111 16 015

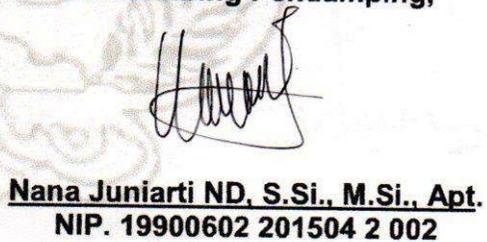


Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003


Nana Juniarti ND, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada tanggal 22 April 2020



**PENGARUH SUHU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA PEPTIDA BIOAKTIF BAKTERI *Lactobacillus fermentum*
NBRC 15885**

**THE EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE ON ANTIBACTERIA
ACTIVITY OF *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885 BACTERIA**

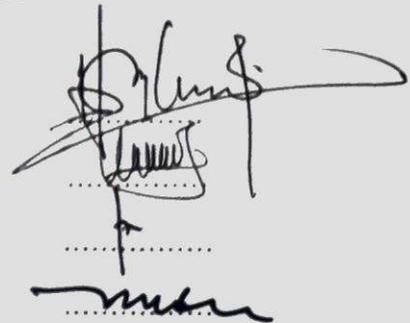
Disusun dan diajukan oleh:

**SITTI NURKHALISHAH RAMLAN
N111 16 015**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada Tanggal
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua :Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
2. Sekretaris :Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., Apt.
3. Ex. Officio :Andi Arjuna, S.Si., M.Na.Sc.T., Apt
4. Ex. Officio :Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt.



Mengetahui,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Sabehan, S.Si., M. Pharm. Sc., Ph.D., Apt..

19750925200112 1 002



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 22 April 2020

Yang menyatakan,



Sitti Nurkhalishah Ramlan
N111 16 015



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur dipanjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa, atas segala limpahan berkah rahmatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kendala yang dihadapi, namun dengan bantuan berbagai pihak skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis mengungkapkan rasa hormat, serta ungkapan rasa terima kasih terdalem kepada yang terhormat Dr. Herlina Rante, S. Si., M. Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya dalam mengarahkan penulis selama penyusunan skripsi. Terima kasih banyak kepada ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S. Si., M. Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktunya selama ini untuk memberikan bimbingan, saran, motivasi, menyumbangkan ide-ide kepada penulis, memberikan arahan, nasehat. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, terima kasih kepada :

1. Dekan dan Wakil Dekan, serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi kepada penulis selama proses perkuliahan.

...k Andi Arjuna, S.Si., M.Na.Sc.T., Apt. dan bapak Prof. Dr. M. Natsir
..., MS., Apt. selaku tim penguji ujian skripsi yang telah memberi kritik
saran yang sangat membantu dalam penyusunan skripsi ini.



3. Bapak Drs. A. Ilham Makhmud, Dip.Sc., MM., Apt. yang telah menjadi orang tua telah banyak meluangkan waktunya dalam membimbing dan memberikan nasehat akademik yang membangun kepada penulis.
4. Seluruh laboran laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, khususnya ibu Haslia, S. Si. atas segala bantuan fasilitas selama penulis mengerjakan penelitian.
5. Kedua orang tua tercinta bapak Drs. Ramlan dan ibu Wadiha, S.E. yang selalu mendengarkan dan memberikan dukungan kepada penulis baik moral maupun materil, serta terima kasih kasih juga penulis ucapkan pada Nur Qalbi Ramlan sebagai kakak yang juga selalu memberi motivasi dan masukan selama proses pengerjaan skripsi.
6. Semua teman angkatan saya, NEOST16MINE yang telah berproses bersama penulis sejak mahasiswa baru hingga mencapai gelar sarjana baik selama perkuliahan maupun selama proses penelitian.
7. Teman-teman WANITAH (Rima, Ainun, Fatimah, Puput, Zenit, Lala, Afda, Cinci, Pit, Fira, Kesya, Mawa, Aya, dan Rini) yang selalu menyemangati penulis di saat-saat terendah dalam hidup penulis.
8. Teman-teman penelitian Peptida Aktif, Andi Ainun Nuzulia, Rima Magfirah, dan Fahrul Ramadan yang senantiasa mengingatkan, memotivasi, serta menemani penulis selama proses pengerjaan penelitian hingga penyelesaian skripsi.

an-teman Micro Crew 2016 yang selalu menemani penulis dalam penyelesaian penelitian di laboratorium, terkhusus Nurul Suci Pratiwi



yang selalu bersedia menemani dan mendengarkan keluh kesah penulis di setiap waktu.

10. Kepada seluruh anggota Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH), khususnya Unit kegiatan Mahasiswa (UKM) Pharmacy Art Community yang telah menjadi keluarga kedua selama penulis berproses untuk mencapai gelar sarjana.

Adapun kekurangan dalam skripsi ini penulis mohon diampunkan kepada Allah karena kelalaian tersebut. Kritik serta saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan kedepannya. Semoga bermanfaat bagi pembaca sekalian. Aamiin.



ABSTRAK

SITTI NURKHALISHAH RAMLAN. *Pengaruh Suhu Fermentasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Senyawa Peptida Bioaktif Dari Bakteri *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885*

Bakteri asam laktat (BAL)---salah satunya *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885---merupakan penghasil peptida bioaktif antimikroba yang telah banyak diteliti. Suhu fermentasi memiliki pengaruh penting terhadap produksi dan aktivitas peptida bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi suhu fermentasi optimal bagi produksi dan aktivitas peptida bioaktif yang dihasilkan oleh *L. fermentum* NBRC 15885. Fermentasi dilakukan dengan menggunakan media *de man, Rogosa, Sharpe Broth*(MRS-Broth) dengan variasi suhu berupa: suhu ruang, 37°C, serta 42,5°C, dilanjutkan dengan uji aktivitas antimikrobanya menggunakan metode *agar-disc diffusion* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengujian, suhu optimal fermentasi *L. fermentum* NBRC 15885 dalam memproduksi peptida bioaktif dengan aktivitas antimikroba tertinggi adalah pada suhu 37°C yakni dengan nilai AU 200 AU/mL dan kadar protein 4,46 mg/mL.

Kata Kunci: Peptida bioaktif, *L. fermentum* NBRC 15885, suhu, nilai AU



ABSTRACT

SITTI NURKHALISHAH RAMLAN. *The Effect Of Fermentation Temperature On Antibacteria Activity Of Lactobacillus fermentum NBRC 15885 Bacteria*

Lactic Acid Bacteria (LAB)---for example *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885---is a producer of antimicrobial bioactive peptide which has been researched. Fermentation temperature has an important role on affecting production and activity of this bioactive peptide. This research focused on determining the optimal condition of fermentation temperature for bioactive peptide production and activity from *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885. Fermentation conducted by medium de man, Rogosa, Sharpe Broth (MRS-Broth), with temperature variation: room temperature, 37°C, and 42,5°C, then tested by agar-disc diffusion method to find out their antimicrobial activity. From the test result, optimum temperature for *Lactobacillus Fermentum NBRC 15885* to produce bioactive peptide with higher antimicrobial activity was on 37°C with AU value 200 AU/mL and peptide content 4,46 mg/mL.

Keywords: Bioactive peptide, *L. fermentum NBRC 15885*, temperature, AU value



DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bakteri Asam Laktat	4
II.2 Senyawa Peptida Bioaktif	4
II.3 Uji Aktivitas Antimikroba	7
II.4 Uraian Mikroba Uji	7
II.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
II.4.1 <i>Escherichia coli</i>	8
BAB III METODE KERJA	10
III.1 Alat dan Bahan	10
III.2 Metode Kerja	10
III.2.1 Pembuatan Medium	10
III.2.2 Pembuatan Starter	11
III.2.3 Fermentasi	11
III.2.4 Purifikasi Parsial Peptida Bioaktif	11
III.2.5 Uji Pendahuluan Protein	12
III.2.6 Uji Aktivitas Antimikroba	12
III.2.7 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan	13



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
IV.1 Produksi Peptida Bioaktif	15
IV.2 Pemurnian Peptida Bioaktif	15
IV.3 Uji Pendahuluan Protein	16
IV.4 Uji Aktivitas Antimikroba	17
IV.5 Uji Kuantitatif Protein	19
BAB V PENUTUP	21
V. 1 Kesimpulan	21
V. 2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	26



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Contoh Senyawa Peptida Bioaktif Beserta BAL Penghasilnya	6
2. Hasil pengukuran kadar protein	18
3. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Parameter 25°C	27
4. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Parameter 37°C	27
5. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Parameter 42,5°C	28
6. Hasil pengukuran standar protein	30
7. Hasil pengukuran sampel (simplo)	30
8. Hasil pengukuran sampel (duplo)	30



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur nisin, bakteriosin yang diproduksi oleh <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454	5
2. Hasil uji kuantitatif protein	16
3. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 25°C pada <i>E. coli</i>	17
4. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 37°C pada <i>E. coli</i>	17
5. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 42,5°C pada <i>E. coli</i>	17
6. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 25°C pada <i>S. aureus</i>	17
7. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 37°C pada <i>S. aureus</i>	17
8. Hasil uji aktivitas antimikroba parameter 25°C pada <i>S. aureus</i>	17
9. Kurva baku standar protein	30
10. Inokulasi starter ke dalam medium fermentasi	31
11. Proses fermentasi	31
12. Proses purifikasi	31
13. Proses dialisis	31
14. Proses uji kuantitatif protein	31
Proses uji aktivitas antimikroba	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	26
2. Hasil uji aktivitas antimikroba	27
3. Perhitungan nilai AU	29
4. Hasil uji kuantitatif protein	30
5. Dokumentasi Penelitian	31



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu sumber peptida aktif yang dapat berperan sebagai senyawa antimikroba. Salah satu contoh senyawa ini adalah bakteriosin (Andarilla dkk., 2018). Meskipun memiliki sifat antimikroba, bakteriosin tidak dapat dikategorikan sebagai antibiotik karena cara sintesis dan mekanisme kerjanya yang berbeda dengan antibiotik pada umumnya hal ini kemudian menjadi keuntungan dalam penggunaan bakteriosin sebagai antimikroba, sebab bakteri yang resisten terhadap antibiotika belum tentu resisten pula terhadap bakteriosin (Cleveland *et al.*, 2001). Menurut Usmiati dan Marwati (2007), bakteriosin sangat potensial untuk dikembangkan sebagai biopreservatif yang diharapkan mampu mengendalikan kontaminan pada jenis olahan makanan tertentu.

Makanan yang memiliki daya tahan yang terbatas membutuhkan tambahan bahan pengawet untuk meningkatkan kualitasnya. Bahan pengawet yang ideal harus efektif pada konsentrasi kecil dan bersifat non-toksik karena dicampurkan secara langsung ke dalam makanan. Namun, beberapa bahan pengawet utamanya bahan pengawet kimia atau sintetik telah terbukti dapat membahayakan konsumennya (Dwivedi *et al.*, 2017).

et golongan benzoat, sorbat, propionat, serta nitrit merupakan bahan pengawet makanan sintetik yang lazim dan legal digunakan di a dengan batas konsentrasi tertentu (BPOM, 2013). Secara garis



besar, karena kemungkinan dampak buruk yang ditimbulkan oleh pengawet sintetik membuat kecenderungan masyarakat untuk menggunakan bahan pengawet alami semakin meningkat. Sebab bahan pengawet yang berasal dari bahan-bahan alam yang dapat berupa antimikroba maupun antioksidan memiliki potensi yang lebih kecil dalam mengganggu kesehatan manusia (Gokoglu, 2018) (Kusnadi, 2018).

Bakteriosin yang berasal dari BAL merupakan salah satu contoh pengawet alami yang telah diteliti dan terbukti efektif dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen baik pada makanan maupun minuman (Sari dkk., 2018). Menurut Galvez *et al.* (2007), bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* merupakan sumber isolat antimikroba yang termasuk *food grade microorganisms* atau mikroorganisme yang aman dikonsumsi atau dicampurkan ke dalam makanan. *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885 yang diisolasi dari produk makanan yang lazim disebut dangke merupakan salah satu contoh BAL yang telah terbukti dapat menghasilkan peptida aktif seperti bakteriosin. BAL yang diperoleh dari produk dangke telah diteliti dan dinyatakan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Syah, 2018).

Suhu fermentasi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam produksi peptida aktif oleh BAL. Menurut Usmiati dan Marwati (2007) produksi optimum *Lactobacillus sp.* yang diisolasi dari susu murni adalah

suhu 33,3°C. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada pemberian perlakuan suhu tersebut pada proses



fermentasinya. Adapun untuk jenis bakteri *Lactobacillus fermentum* secara spesifik, suhu optimal yang diperoleh adalah 37°C pada pH 6,5 (Wayah and Philip, 2018).

Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh suhu fermentasi bakteri *Lactobacillus fermentum NBRC 15885* dalam menghasilkan metabolit yakni peptida aktif yang kemungkinan berupa bakteriosin. Adapun yang akan menjadi ukuran suhu fermentasi optimal dari produksi bakteriosin adalah besarnya zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antimikroba yang dinyatakan dengan nilai AU (*Activity Unit*).

I.2 Rumusan Masalah

Berapa suhu fermentasi yang dibutuhkan bakteri *Lactobacillus fermentum NBRC 15885* dalam memproduksi peptida bioaktif dengan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui suhu fermentasi yang dibutuhkan bakteri *Lactobacillus fermentum NBRC 15885* dalam memproduksi peptida aktif dengan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan sekelompok bakteri Gram positif yang memiliki karakteristik morfologi, metabolisme, dan fisiologi tertentu. Bakteri-bakteri ini tidak menghasilkan spora, tidak berespirasi namun *aerotolerant*, dapat berbentuk kokus maupun batang, yang menghasilkan asam laktat sebagai salah satu hasil utama fermentasi karbohidrat. Berdasarkan klasifikasi taksonomi, bakteri asam laktat termasuk dalam filum *Firmicutes*, kelas *Bacili*, serta ordo *Lactobaciliales* (Quinto, *et al.*, 2014).

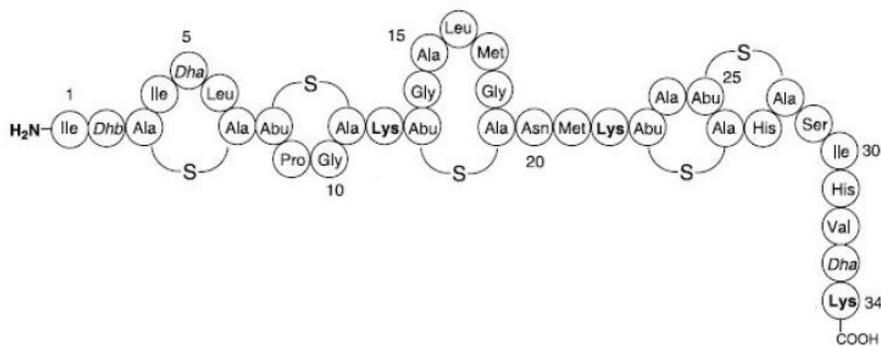
BAL memiliki peran penting dalam bidang produksi makanan, agrikultur, kesehatan. Selain memfermentasi karbohidrat, BAL juga dapat mendegradasi protein dan lemak serta bermacam jenis alkohol, aldehid, asam, ester, dan sulfur yang berpengaruh terhadap perkembangan rasa spesifik dalam berbagai produk makanan fermentasi. Beberapa jenis bakteri dari kelompok BAL telah dinyatakan sebagai *Generally Recognised as Safe* (GRAS) untuk dikonsumsi manusia. Adapun penggunaan utama BAL adalah sebagai kultur *starter* pada berbagai produk susu fermentasi seperti keju dan yogurt, daging, ikan, buah, sayur, serta sereal (Bintsis, T., 2018).

II.2 Senyawa Peptida Bioaktif

Peptida bioaktif merupakan senyawa organik yang berupa ikatan yang terdiri dari asam-asam amino yang kemudian disebut ikatan



amida atau ikatan peptida. Senyawa ini memiliki peran yang cukup penting bagi kesehatan tubuh manusia dengan mempengaruhi sistem pencernaan, endokrin, kardiovaskular, imun, serta saraf (Sanchez and Vazquez, 2017). Lebih dari 1500 peptida bioaktif telah terdaftar di dalam *database* yang disebut 'Biopep', termasuk bakteriosin yang diproduksi oleh BAL (Singh *et al.*, 2014).



Gambar 1. Struktur Nisin, Bakteriosin yang Diproduksi oleh *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 (Jozala, A. F., *et al*, 2015)

Peptida bioaktif terbukti mampu mencegah oksidasi dan degradasi pada makanan yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme sehingga dinyatakan berpotensi sebagai pengawet makanan. Senyawa ini bersumber dari bahan-bahan yang mengandung protein seperti hewan, tumbuhan, maupun makanan. Selain sumbernya yang beragam, kegunaan peptida bioaktif juga bermacam-macam, yakni dapat berfungsi sebagai *ACE inhibitory*, stimulan imun, opioid, dan antioksidatif (Sanchez and Vazquez, 2017).

beragaman jenis peptida bioaktif merupakan bukti dari adanya karakteristik antara peptida bioaktif yang satu dengan yang



lainnya sehingga mengakibatkan efek atau fungsi dari senyawa tersebut akan berbeda-beda pula. Misalnya pada peptida bioaktif antimikroba atau *antimicrobial peptide* (AMP). Peptida bioaktif jenis ini lazimnya berukuran cukup kecil (bobot molekulnya di bawah 10kDa) serta bermuatan positif dan bersifat amfipatik (memiliki bagian hidrofobik dan hidrofilik di ujungnya) sehingga memudahkan penetrasinya pada dinding sel bakteri. Namun, meskipun berbobot molekul kecil, AMP tersusun atas 15-20 asam amino yang membentuk rantai panjang (Sanchez and Vazquez, 2017).

Menurut Nakahara, *et al* (2012) suhu fermentasi BAL dalam memproduksi peptida bioaktif sangat berpengaruh terhadap jumlah metabolit yang dihasilkan. Semakin tinggi suhu fermentasi, maka kemungkinan peptida akan semakin banyak diproduksi. Sebab, enzim peptidase yang mendegradasi peptida bioaktif terutama yang memiliki bobot molekul rendah terinaktivasi pada suhu fermentasi yang tinggi (Nakahara, *et al*, 2012).

Tabel 1. Contoh senyawa peptida bioaktif beserta BAL penghasilnya (Venegas-Ortega, *et al*, 2019)

Penghasil	Peptida Bioaktif yang Dihasilkan
<i>L. lactis</i> LMG 2081	Bakteriosin (Lactococcin G)
<i>L. plantarum</i>	Bakteriosin (Plantaricin SLG1)
<i>L. casei</i> spp.	ACE inhibitor
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356	Peptida imunomodulator
<i>L. brevis</i>	Peptida antioksidan



II.3 Uji Aktivitas Antimikroba

Antimikroba dapat dinyatakan sebagai bahan atau senyawa yang mampu mengganggu pertumbuhan serta metabolisme mikroorganisme. Gangguan ini dapat bersifat membunuh maupun menghambat pertumbuhan mikroba (Pelczar and Chan, 2005). Berdasarkan efek yang ditimbulkan, senyawa antimikroba dapat dikategorikan menjadi bakteristatik dan bakteriosid (Djide dan Sartini, 2016).

Metode uji *agar disc-diffusion* merupakan salah satu metode pengujian yang digunakan pada berbagai laboratorium mikrobiologi untuk menguji aktivitas antimikroba dari sampel tertentu. Pada metode ini, digunakan *paper disc* (berdiameter sekitar 6 mm) yang telah ditetesi sampel yang akan diuji untuk kemudian ditempelkan di permukaan agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil positif dari metode ini adalah adanya zona hambat yang kemudian akan diukur diameternya (Balouiri, *et al*, 2015)

Metode *agar disc-diffusion* sangat sering dijadikan pilihan utama dalam pengujian aktivitas antimikroba karena cara kerjanya yang sederhana, murah, dapat digunakan untuk berbagai jenis bakteri uji, serta interpretasi hasilnya yang sangat mudah diamati, yakni dengan mengamati zona hambat di cawan petri untuk kemudian dinyatakan dalam nilai AU (Balouiri, *et al*, 2015). Menurut Marie,*et al* (2011) yang telah meneliti pengaruh suhu terhadap produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus rhamnosus*, menyatakan

nilai AU tertinggi diperoleh pada suhu fermentasi 30°C yakni sebesar /mL.



II.4 Uraian Mikroba Uji

II.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulatan-bulatan berkelompok dan teratur seperti buah anggur dengan ukuran 0,7-1,2 μm . Mikroba ini bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, serta nonmotil. Suhu optimum pertumbuhan bakteri ini adalah suhu 37°C namun membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar. Koloni tampak berwarna abu-abu hingga kuning keemasan dengan bentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz *et al*, 2008).

Adapun klasifikasi dari bakteri ini adalah (Rosenbach, 1884):

Domain : Bacteria
 Kingdom : Eubacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacili
 Ordo : Bacilales
 Famili : Staphylococcae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

II.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif yang dapat hidup pada berbagai substrat dengan melakukan fermentasi anaerobik silkan asam laktat, suksinat, asetat, etanol, dan karbondioksida. ni termasuk *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang atau koma, dapat



tunggal atau berpasangan dalam rantai pendek, bersifat anaerob fakultatif, serta tidak menghasilkan spora (Whitam, *et al*, 2011).

Adapun klasifikasi *E. coli* adalah (Hardjoeno, 2007):

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : *Escherichia coli*

