UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
Islamic Center, Jl. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur 13460 Telp. (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
www.uhamka.ac.id, www.ffs.uhamka.ac.id, Email: ffs@uhamka.ac.id

S U R A T T U G A S

NOMOR: 612/FFS/LL/2024

Pimpinan Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka dengan ini memberi tugas kepada :

Nama	:	**1. Fitri Yuniarti, M.Si.** **2. apt. Fahjar Prisiska, M.Farm.**
Jabatan	:	Dosen FFS UHAMKA
Alamat	:	Islamic Center Jl. Delima Raya II/ IV, Perumnas Klender – Jakarta Timur
Tugas	:	Melaksanakan Penelitian dan Publikasi **"UJI EFEKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI FERMENTASI KAKAO MERAH (THEOBROMA CACAO L. VARIETAS CRIOLLO) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI SHIGELLA DYSENTERIAE.**
Waktu	:	Semester GANJIL TA. 2024/2025
Lain-lain	:	Setelah melaksanakan tugas agar memberikan laporan kepada Dekan atau kepada pemberi tugas.

Demikian surat tugas ini diberikan untuk dilaksanakan dengan sebaik–baiknya sebagai amanah dan ibadah kepada Allah Subhanahu Wata`ala

Jakarta, 18 September 2024

Dekan

Dr. apt. Supandi, M.Si.

LAPORAN PENELITIAN MANDIRI
KOLABORATIF DOSEN DAN MAHASISWA

UJI EFEKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI FERMENTASI KAKAO MERAH (*THEOBROMA CACAO* L. VARIETAS *CRIOLLO*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *SHIGELLA DYSENTERIAE*

Tim Peneliti

1. **Fitri Yuniarti, M.Si.** **(NIDN. 0318068504)**
2. **Apt. Fahjar Prisiska, M. Farm** **(NIDN. 0311048101)**
3. **Audina Sarah** **(NIM. 0304015081)**

PROGRAM STUDI S1-FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
TAHUN 2025

LEMBAR PENGESAHAN PENELITIAN MANDIRI

Judul Penelitian :

UJI EFEKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI FERMENTASI KAKAO MERAH (*THEOBROMA CACAO* L. VARIETAS *CRIOLLO*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *SHIGELLA DYSENTERIAE*

Jenis Penelitian	: Penelitian Mandiri
Ketua Peneliti	: Fitri Yuniarti, M.Si
NIDN	: 0318068504
Jabatan Fungsional	: Lektor
Fakultas/Program Studi	: FFS/Farmasi
Email	: fitri_yuniarti@uhamka.ac.id
Anggota Peneliti	: Audina Sarah
NIM	: 0304015081
Fakultas/Program Studi	: FFS/Farmasi
Waktu Penelitian	: September 2024 - Januari 2025
Luaran Penelitian	: Laporan

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Dr. apt. Rini Prastiwi, M. Si
NIDN. 0628097801

Jakarta, 19 Januari 2025
Ketua Peneliti

Fitri Yuniarti, M. Si
NIDN. 0318068504

Menyetujui
Dekan FFS

Dr. Apt. Supandi, M. Si
NIDN. 0319067801

Ketua LPPMP UHAMKA

Prof. Hanif Mulyono, M.Pd., Ph.D
NIDN. 0305108003

ABSTRAK

Cacao merupakan salah satu komoditas perkebunan dan Sumber Daya Alam Indonesia yang memiliki peranan cukup penting, terutama dalam pengembangan habitat tumbuhnya berbagai mikroorganisme baik, salah satunya Bakteri Asam Laktat (BAL) yang baik untuk kesehatan pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat dari fermentasi buah cacao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*), melakukan skrining antibakteri terhadapa bakteri patogen *Shigella dysenteriae.* Penelitian ini di awali dengan isolasi bakteri asam laktat dari fermentasi buah cacao merah, setelah itu dilakukan skrining aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram terhadap bakteri uji *Shigella dysenteriae*. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa isolat KAT372 memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap bakteri uji. Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa Isolat BAL dari fermentasi buah cacao merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*, sehingga nantinya dapat dimanfaatkan sebagai sumber antibakteri alami.

***Kata Kunci*: Bakteri Asam Laktat, Cacao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*), Antibakteri, *Shigella dysenteriae*.**

DAFTAR ISI

Halaman Pengesahan ii

Surat Perjanjian Kontrak iii

Abstrak iv

Daftar Isi vi

Bab 1. Pendahuluan 1

Bab 2. Tinjauan Pustaka 4

Bab 3. Metodologi Penelitian 11

Bab 4. Hasil dan Pembahasan 16

Bab 5. Simpulan dan Saran 26

Bab 6. Luaran Yang dicapai 27

Bab 7. Rencana Tindak Lanjut Dan Proyeksi Hilirisasi 28

Daftar Pustaka 29

Lampiran 32

BAB I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan berbagai sumber daya alam, salah satunya berbagai jenis tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan yang memiliki peranan cukup penting, terutama memiliki keuntungan untuk pengembangan habitat tumbuhnya berbagai mikroorganisme baik, salah satunya bakteri asam laktat yang baik untuk kesehatan pencernaan. Bakteri asam laktat memberikan pengaruh yang menguntungkan terhadap mikrofloral normal dalam usus, bersifat kompetitif terhadap bakteri patogen dan menstimulasi imunitas mukosa (Yani dkk. 2006). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi bakteri asam laktat dari yoghurt yang diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi.* Semua isolat bakteri asam laktat yang didapat menghasilkan zona bening pada uji aktivitas antibakterinya (Yani dkk. 2006).

Penelitian tentang isolasi bakteri asam laktat untuk kesehatan telah banyak dilakukan terutama yang diisolasi dari produk-produk daging mentah ataupun kalengan dan produk susu. Namun masih sedikit yang diisolasi dari buah-buahan dan sayur-sayuran terutama buah-buahan lokal. Beberapa sumber memaparkan bahwa pada buah-buahan dan sayuran seperti durian, nenas, sirsak, kakao, pisang, mangga, tomat, kubis, asinan sawi, selada, dan kacang panjang merupakan sumber potensial bakteri asam laktat (Sari dkk. 2013). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan bakteri asam laktat adalah tanaman kakao (*Theobroma cacao* L) yang dibagi menjadi tiga kelompok besar yaitu, *criollo, forastero dan trinitario*.

Kakao jenis *criollo* dinilai paling baik karna termasuk kakao mulia dan memiliki mutu serta citarasa khas yang baik (Karmawati dkk. 2010). Rendahnya aerasi dalam massa kakao merupakan kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Kandungan gula pada daging buah kakao cukup tinggi, yaitu sekitar 10- 15% (Warisno dan Dahana 2009) yang merupakan faktor penting pada proses fermentasi. Bakteri asam laktat yang berperan aktif selama fermentasi berkembang biak secara spontan karena lingkungan hidupnya dibuat sesuai untuk pertumbuhannya (Sharah dkk. 2015), sehingga pada proses fermentasi terjadi perbanyakan jumlah bakteri asam laktat.

Keberadaan bakteri asam laktat yang merupakan bakteri probiotik dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri asam laktat menghasilkan beberapa komponen antimikroba yaitu asam organik, karbon dioksida, hidrogen peroksida, diasetil, reuterin, dan bakteriosin (Amezquita dan Brashears 2002), sehingga berpotensi meningkatkan mikroflora usus yang berperan dalam mengoptimalkan kondisi kesehatan tubuh (Rahman dkk. 2012). Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit disentri sehingga bakteri ini dapat menyebabkan gangguan pencernaan yang serius. Oleh karena itu bakteri patogen ini cocok untuk dijadikan sebagai bakteri uji aktivitas antibakteri dari bakteri asam laktat.

Mengingat banyaknya manfaat dari Bakteri Asam Laktat dan kemampuan aktivitas antibakteri yang dimilikinya terhadap berbagai macam bakteri patogen, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang isolat BAL yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *shigella dysenteriae* dari fermentasi buah cacao merah.

2. Rumusan Masalah

Berdasarkan hal yang telah di uraikan di latar belakang, diketahui bahwa fermentasi buah cacao merah mengandung bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam bakteri pathogen. Adanya informasi tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat BAL dari fermentasi buah cacao merah yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen *shigella dysenteriae*.

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, dan skrining antibakteri bakteri asam laktat dari fermentasi buah kakao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*).

4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai spesies bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas antibakteri yang terdapat pada fermentasi buah kakao merah. Dengan demikian dapat diaplikasikan sebagai sumber antibakteri alami dalam dunia farmasi dan Kesehatan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

1. Deskripsi Tanaman Kubis

Kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah tanaman tahunan dari famili *Sterculiaceae*, berupa pohon dengan percabangan agak rendah dengan tinggi 3-15 meter. Ada bermacam-macam kakao, namun yang umum dibudidayakan adalah *criollo, forastero*, dan *Trinitario* yang merupakan varietas dari *Theobroma cacao* (Karmawati dkk. 2010). Varietas *criollo* menghasilkan biji kakao yang bermutu baik, buahnya berwarna merah atau kuning dan lebih panjang, dinding buahnya tipis meruncing, permukaan kulit buah kasar, biji buahnya besar-besar dengan kotiledonnya berwarna putih atau jingga kulit buah, setelah matang akan lepas dan berbunyi jika diguncang. Biji-biji inilah yang akan dimanfaatkan dalam industri makanan. Kakao merupakan satu-satunya dari 22 jenis marga *Theobroma*, suku Sterculiaceae yang diusahakan secara komersial. Kakao merah atau varietas *criollo* termasuk kakao yang bermutu tinggi atau kakao mulia atau *odel cacao* atau *fine flavour cacao.* Negara-negara penghasil kakao ini adalah Venezuela, Ekuador, Trinidad, Grenada, Srilangka, Indonesia, Samoa, Jamaica, Suriname, dan sebagian kecil India Barat (Sunanto 1992). Gula yang terkandung dalam daging buah merupakan faktor penting dalam proses fermentasi biji kakao. Glukosa, sukrosa dan fruktosa merupakan tiga jenis gula utama dalam daging buah kakao yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Buah kakao matang memiliki daging buah berwarna putih dengan tekstur padat, lunak dan licin disebabkan oleh kandungan pectin serta polisakarida seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin di dalamnya. Karakteristik daging buah kakao kaya akan gula-gula fermentatif seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa serta memiliki pH rendah (3,0-3,5) yang sesuai untuk pertumbuhan khamir dan bakteri asam laktat.

2. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif, non-motil, tidak bersporulasi dan memproduksi asam laktat sebagai hasil utama dari metabolisme fermentasinya (Sari dkk. 2013). Semua bakteri asam laktat bersifat anaerob fakultatif. Berdasarkan produk yang dihasilkan selama fermentasi, bakteri asam laktat dibedakan menjadi homoferentatif dan heterofermentatif (Septiarini dkk. 2013).

Beberapa hasil fermentasi yang penting dari BAL yaitu kemampuannya memproduksi komponen antimikroba, seperti asam-asam organik dan bakteriosin yang potensial untuk menghambat mikroorganisme patogen yang terdapat pada makanan dan mikroorganisme patogen terhadap manusia (Ibrahim dkk. 2010). BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas *hygiene* dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen. Bakteri asam laktat dapat berfungsi sebagai pengawet makanan karena mampu memproduksi asam organik, menurunkan pH lingkungannya dan mengekskresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme seperti peroksida, diasetil, karbondioksida, asetaldehida, d-isomer asam-asam amino dan bakteriosin (Kusmiati 2002). Bakteriosin adalah protein yang disintesis secara ribosomal dihasilkan oleh sejumlah bakteri yang memiliki aktivitas bakterisidal dan bakteriostatik terhadap bakteri yang memiliki hubungan kekerabatan secara filogenetik. Bakteriosin diproduksi secara luas oleh bakteri gram positif maupun negatif (Yulineri dan Nurhidayat 2015).

3. Fermentasi

Fermentasi adalah proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba pada substrat organik yang sesuai. Proses fermentasi termasuk ke dalam reaksi katabolisme anaerob yang menggunakan substrat organik sebagai donor sekaligus akseptor elektron selama reaksi berlangsung. Fermentasi pada umumnya adalah seperangkat proses yang di dalamnya terdapat mikroba yang dibiakkan dalam suatu fermentor. Fermentor atau alat untuk melakukan fermentasi adalah suatu tangki atau tong biasa yang berisi mikroba dalam medium bahan makanan. Fermentasi cara klasik berlangsung dalam suasana anaerob (Dinata 2009).

Bahan pangan yang melalui proses fermentasi cenderung memiliki kandungan gizi yang tinggi daripada asalnya. Selama proses fermentasi terjadi perubahan sifat fisik pada substrat fermentasi, hal tersebut dikarenakan oleh aktivitas enzim terhadap senyawa kompleks dan sintesis vitamin pada saat fermentasi berlangsung. Enzim pada proses fermentasi dapat berasal dari enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan enzim yang telah ada dalam substrat fermentasi tersebut (Sari dkk. 2013). Keberhasilan proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh keberhasilan dalam mengoptimalkan faktor-faktor dari pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Faktor-faktor tersebut akan memberikan

kondisi yang berbeda untuk setiap mikroba sesuai dengan lingkungan hidupnya masing-masing sehingga mempengaruhi kinetika fermentasinya (Sharah dkk. 2015).

4. Bakteri Patogen *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram negatif, non motil, tidak berkapsul, tidak membentuk spora dan tumbuh baik pada kondisi aerob. *Shigella dysenteriae* tidak meragikan laktosa tetapi dapat meragikan karbohidrat lainnya. Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran cerna manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basiler. Bentuk kokobasil pada *Shigella* dapat terjadi pada biakan muda. Bakteri *Shigella dysenteriae* menghasilkan asam dari karbohidrat namun tidak menghasilkan gas (Jawetz *et al*. 1980).

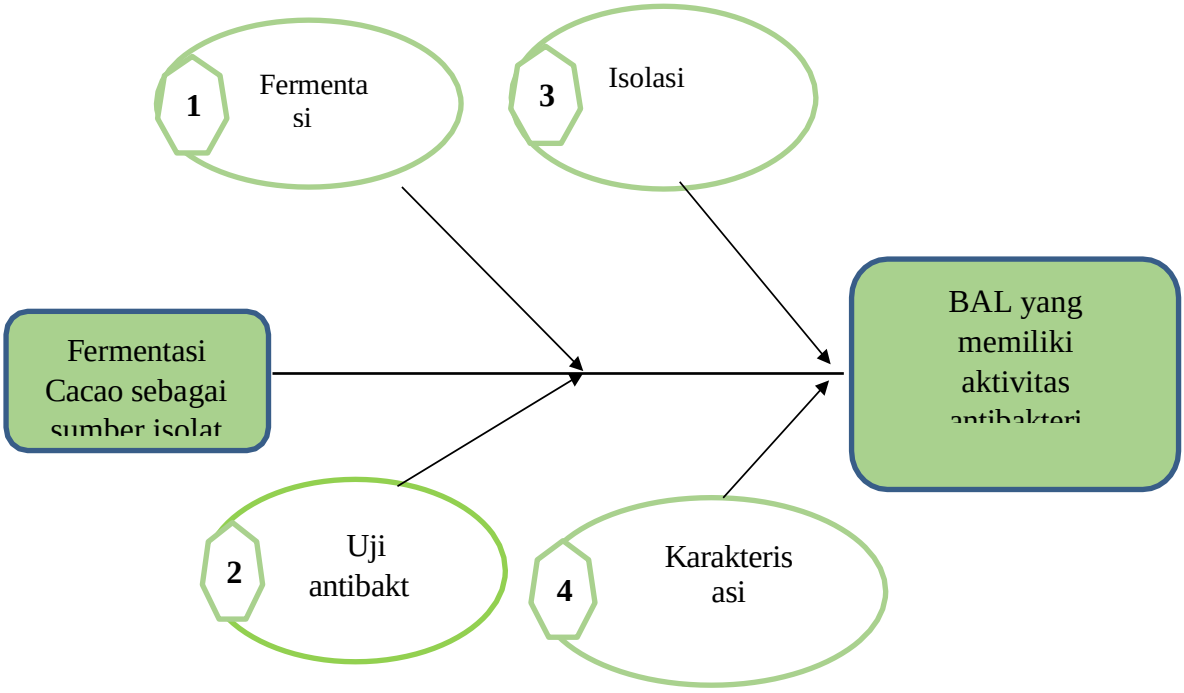
Infeksi yang disebabkan *Shigella* terbatas pada sistem gastrointestinal, penyebaran dalam aliran darah sangat jarang terjadi. *Shigella dysenteriae* memproduksi eksotoksin tidak tahan panas yang mempengaruhi usus dan susunan saraf pusat. Eksotoksin merupakan protein antigenik (merangsang produksi antitoksin) yang dapat mematikan hewan percobaan. Eksotoksin dapat menghambat penyerapan gula dan asam amino pada usus kecil. Berlaku seperti neurotoksin, eksotoksin menyebabkan rasa sakit yang hebat dan infeksi yang fatal pada reaksi susunan saraf pusat (Brooks *et al*. 2001).

5. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Jawetz *et al.* 1980). Berdasarkan kemampuannya senyawa antibakteri dibagi atas bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal bekerja membunuh bakteri. Mekanisme kerja senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim dan penghambatan sintesi protein dan asam nukleat.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian



1. **Lokasi penelitian** :

Di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Bioteknologi, dan Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka dan Laboratorium Riset Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

2. **Desain Penelitian** :

Desain Yang digunakan adalah desain eksperimental secara kualitatif

3. **Sampel Penelitian**:

Sampel Penelitian berupa Buah Cacao varietas merah yang sudah matang

B. Cara Kerja

1. Persiapan dan pengambilan sampel

Persiapan awal yaitu terdiri dari menyiapkan alat dan bahan serta pembuatan media. Alat- alat gelas di sterilisasi dalam oven suhu 160^0C, medium yang telah di siapkan di sterilisasi dalam autoklaf suhu 121^0C, laminar air flow di sterilkan menggunakan etanol 70%. Bahan yang digunakan sebagai sampel uji adalah buah cacao varietas merah. cacao terlebih dahulu dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong.

2. Fermentasi Buah Kakao Merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*)

Sebanyak 5 gram daging buah kakao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo)* yang telah matang difermentasi dengan menggunakan alat yang telah disterilkan. Kemudian buah kakao yang telah dikupas dan dipisahkan dari bijinya dibungkus dengan daun pisang lalu diletakkan dalam kotak atau wadah fermentasi selama tiga hari (Ibrahim dkk. 2015).

3. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Hasil fermentasi buah kakao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*) sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam 45 ml MRSB, kemudian dilakukan pengenceran secara berseri dari pengenceran 10^{-1} hingga pengenceran 10^{-9} (Ibrahim dkk. 2015). Pengenceran 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8} dan 10^{-9} diambil sebagai starter kultur bakteri. Tabung reaksi yang berisi suspensi dari hasil pengenceran bakteri diambil 100 µl, kemudian dituang ke dalam cawan petri steril yang berisi media MRSA yang telah padat menggunakan metode sebar. Media agar cawan petri yang mengandung biakan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 24 jam. Koloni- koloni yang terpisah dan berbeda bentuk dimurnikan dengan metode cawan gores dengan cara diambil 1 Ose koloni bakteri dan digoreskan pada media MRSA, setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. stok kultur diambil dari koloni murni yang tumbuh diambil 1 Ose kemudian digoreskan secara zig zag ke dalam media MRSA *slant* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

4. Identifikasi morfologi bakteri asam laktat

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan identifikasi morfologi bakteri asam laktat secara makroskopik dan mikroskopik.

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri *Shigella dysenteriae* diambil 0,1 ml inokulum bakteri menggunakan pipet

mikro dicampurkan dengan 20 ml *Nutrient Agar* sampai homogen di cawan petri steril, kemudian dibiarkan memadat. Pada media yang telah berisi bakteri uji diletakkan kertas cakram yang sudah berisi suspensi bebas sel Bakteri Asam Laktat (BAL), untuk pembanding kontrol positif digunakan kertas cakram yang sudah berisi antibiotik *ciprofloxacin* sedangkan kontrol negatif menggunakan aqua destilata. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37^{o}C selama 24 jam. Selanjutnya diameter daerah bening disekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong.

C. Indikator pencapaian hasil penelitian

Indikator pencapaian hasil penelitian yaitu dengan mendapatkan isolat BAL yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Shigella dysenteriae* ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekeliling kertas cakram.. Dengan adanya hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa BAL yang berasal dari fermentasi Cacao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Shigella dysenteriae*.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daging buah dari tanaman kakao merah. Buah kakao merah yang digunakan, diperoleh dari Padang, Sumatera Barat. Buah kakao merah dideterminasi di Herbarium Bogoriense Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan jenis tanaman *Theobroma cacao* L. yang berasal dari keluarga *Sterculiaceae*.

B. Fermentasi Cacao

Pemisahan daging buah kakao merupakan langkah awal dalam fermentasi, hal ini diperlukan untuk memisahkan daging buah dengan bijinya. Tahap selanjutnya yaitu membungkus daging buah dengan daun pisang yang bertujuan untuk menghindari kerusakan hasil fermentasi secara fisik maupun kimiawi. Pemakaian daun pisang jauh lebih aman dibanding dengan plastik karena daun pisang mengandung polifenol sama seperti daun teh yang berfungsi sebagai antioksidan, selain itu daun pisang juga bersifat kontaminan alami yang tidak berbahaya. Setelah dibungkus lalu disimpan dalam wadah fermentor selama 72 jam. Setelah disimpan selama 72 jam terjadi penurunan pH daging buah kakao dimana pH awal 6 menjadi 4, hal ini dikarenakan bakteri asam laktat termasuk bakteri yang menghasilkan sejumlah besar senyawa asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat), asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan nilai pH lingkungan dan menimbulkan rasa asam (Yani dkk. 2013). Selain pH, warna, rasa dan bau setelah fermentasi juga ikut berubah, warna daging buah sebelum difermentasi putih, tidak berbau dan rasanya asam manis sedangkan setelah fermentasi warna berubah menjadi putih kekuningan, berbau khas dan memiliki rasa asam manis khas seperti tape.

Fermentasi ini bertujuan untuk memperbanyak mikroorganisme dan meningkatkan metabolitnya, hal ini dapat terjadi karena kondisi saat fermentasi disesuaikan dengan kondisi pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga proses enzimatis dan pemecahan substrat menjadi optimal kemudian menyebabkan jumlah bakteri asam laktat dan metabolitnya meningkat (Sharah dkk. 2015). Beberapa hasil fermentasi seperti asam-asam organik dan alkohol dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen karena bakteri patogen tidak dapat tumbuh dalam suasana asam. Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu asam laktat, etanol dan hidrogen peroksida,

metabolit tersebut merupakan agen yang dapat membunuh bakteri patogen (Ibrahim dkk. 2015).

C. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Semua proses isolasi dilakukan di dalam *laminary air flow* agar proses isolasi tidak terkontaminasi bakteri yang tidak diinginkan. Hasil fermentasi selanjutnya diperkaya dalam medium MRSB dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat. Hasil fermentasi yang telah diperkaya dalam MRSB (10^{-1}) diambil sebanyak 1 ml kemudian disuspensikan dalam 9 ml *pepton water* (10^{-2}), hasil pengenceran 10^{-2} diambil sebanyak 1 ml kemudian disuspensikan dalam 9 ml *pepton water* (10^{-3}), pengenceran dilakukan hingga 10^{-9}. Pengenceran ini bertujuan untuk mengurangi kepadatan bakteri yang akan ditanam sehingga tidak terjadi penumpukan bakteri.

Pengenceran 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8} dan 10^{-9} diambil sebagai starter kultur bakteri untuk proses pemurnian selanjutnya. Empat pengenceran terakhir diambil karena semakin tinggi pengencerannya maka kepadatan bakteri semakin berkurang sehingga akan didapat koloni tunggal. Tabung reaksi yang berisi suspensi dari hasil pengenceran bakteri 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8} dan 10^{-9} diambil 100 µl, kemudian dituang ke dalam cawan petri steril yang berisi media MRSA yang telah padat menggunakan metode sebar. Pada *plate* metode sebar hasil pengenceran 10^{-6} tidak didapatkan koloni yang diinginkan karena bakteri terlalu rapat dan tidak memenuhi kriteria bentuk BAL. Pada *plate* metode sebar hasil pengenceran 10^{-7} didapatkan 4 koloni dan pada *plate* metode sebar hasil pengenceran 10^{-8} didapatkan 2 koloni yang memenuhi kriteria bentuk BAL yaitu bulat, cembung, tepian halus, dan putih susu. Sedangkan pada *plate* metode sebar hasil pengenceran 10^{-9} tidak ditemukan pertumbuhan bakteri asam laktat, hal ini kemungkinan disebabkan oleh konsentrasi bakteri terlalu kecil.

Keseluruhan dari hasil metode sebar diambil 6 koloni tunggal yang berasal dari pengenceran 10^{-7} berjumlah 4 isolat dan pengenceran 10^{-8} berjumlah 2 isolat. Pemilihan 6 koloni tunggal ini didasarkan pada bentuk morfologinya yang bulat, cembung dan berwarna putih susu sesuai dengan kriteria bentuk bakteri asam laktat. Kemudian dimurnikan dalam medium MRSA dengan metode gores zig zag, hal ini dilakukan untuk mendapatkan isolat tunggal yang lebih murni. Stok kultur diambil dari koloni murni yang

tumbuh sebanyak 1 Ose kemudian digoreskan secara zig zag ke dalam media MRSA *slant* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Keenam isolat ini terdiri dari KAT371, KAT372, KAT373, KAT374, KAT381 dan KAT382. Stok isolat disimpan untuk pengujian tahap selanjutnya.

D. Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat.

` Identifikasi awal bakteri asam laktat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk tepian, warna, elevasi, dan bau koloni bakteri. Dari 6 koloni tunggal yang diambil, secara makroskopis memiliki ciri bentuk bulat, cembung, tepian halus, berwarna putih susu dan berbau khas. Sedangkan identifikasi secara mikroskopi dilakukan dengan mengamati biakan yang sudah diwarnai di bawah mikroskop dan melihat bagaimana bentuk sel, sifat Gram dan kemampuan membentuk spora dari bakteri tersebut (Hadioetomo,1985).

Hasil identifikasi secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat yang didapat merupakan bakteri Gram postif sebab pada pewarnaan menunjukkan warna ungu. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga dapat menahan Kristal violet (Gram A) saat pewarnaan dan tidak luntur saat pencucian dengan alkohol. Pada pewarnaan Gram B (Iodin) berfungsi untuk memfiksasi pewarna Gram A yang diserap oleh bakteri, Sedangkan Alkohol berfungsi untuk membilas atau melunturkan kelebihan zat warna pada sel bakteri. Pewarnaan yang terakhir yaitu safranin berfungsi untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan warnanya setelah dibilas alkohol. Hasil identifikasi secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Morfologi BAL dari Kakao Merah

Parameter	Kode Isolat					
	KAT371	KAT372	KAT373	KAT374	KAT381	KAT382
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih

Koloni	susu	susu	susu	susu	susu	susu
Bentuk Koloni	Bulat, cembung	Bulat, cembung	Bulat, cembung	Bulat, cembung	Bulat, cembung	Bulat, cembung
Tepi Koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
Warna Sel	Ungu	Ungu	Ungu	Ungu	Ungu	Ungu
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif

E. Uji Aktivitas Antibakteri

Sebelum uji aktivitas dilakukan, kepadatan sel bakteri patogen (T 25%) diukur terlebih dahulu menggunakan spektrofotmeter transmitan pada panjang gelombang 580 nm. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kepadatan sel yang berlebihan pada saat uji aktivitas. Bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Shigellae dysenteriae*. Pemilihan bakteri patogen ini didasarkan karena bakteri ini berkaitan erat dengan penyakit saluran pencernaan, sedangkan bakteri asam laktat diketahui sangat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan.

Kontrol positif yang digunakan yaitu *ciprofloxacin* karena antibiotik ini merupakan pengobatan pilihan pertama pada penyakit yang disebabkan oleh *shigella* dan merupakan antibiotik spektrum luas (Katzung 1998). Keenam isolat bakteri asam laktat diinokulasikan ke dalam medium MRSB dan diinkubasi selama 7 hari, hasil fermentasi dari hari pertama sampai ketujuh masing-masing diambil dan disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit hingga didapat 2 lapisan. Supernatan yang terbentuk digunakan untuk merendam kertas cakram dalam uji aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas BAL sebagai antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri *Shigellae dysenteriae*

Kode Isolat	Hari Fermentasi						
	1	2	3	4	5	6	7

	Zona Hambat (mm)						
KAT371	7,017	10,125	9,275	8,125	6,717	6,867	7,017
KAT372	7,083	9,267	9,367	8,425	7,233	7,033	7,117
KAT373	6,708	8,558	8,333	7,767	6,700	6,750	6,817
KAT374	6,725	8,075	8,367	6,767	6,717	6,717	6,873
KAT381	6,717	7,575	9,342	7,175	6,783	6,817	6,910
KAT382	6,783	8,875	8,175	6,725	6,767	6,783	6,717
Kontrol +	**16,470**						
Kontrol -							

Hasil uji aktivitas bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghambat *Shigellae dysenteriae* yang ditandai dengan zona hambat yang terbentuk disekitar cakram. Zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri Shigella dysenteriae memiliki nilai tidak terlalu besar . Hal ini disebabkan karena *Shigellae dysenteriae* memiliki ketahanan terhadap pH asam, dimana salah satu mekanisme antibakteri dari bakteri asam laktat sendiri yaitu menurunkan pH sekitar sehingga bakteri patogen tidak dapat mempertahankan pHnya yang menyebabkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler dari bakteri patogen tersebut (Septiarini dkk. 2013).

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa semua isolat bakteri asam laktat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigellae dysenteriae* pada semua waktu fermentasi. Hal ini disebabkan karena pada umumnya bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit primer seperti asam laktat, asam asetat dan hidrogen peroksida pada fase logaritmik (Djide dan Sartini 2008).

Metabolit sekunder dari bakteri asam laktat seperti bakteriosin yang terbentuk pada fase stasioner juga berperan penting dalam penghambatan bakteri patogen. Isolat KAT372 dipilih untuk dikarakterisasi dengan metode PCR karena isolat KAT372 memiliki nilai rata-rata zona hambat lebih besar dari isolat lainnya serta memiliki rata rata zona hambat paling tinggi setiap harinya pada bakteri Shigellae dysenteriae.

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 6 isolat bakteri asam laktat dari fermentasi

buah kakao merah (*Theobroma cacao* L. varietas *criollo*) beraktivitas antibakteri dengan isolat KAT372 yang memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Shigella dysenteriae*

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan uji aktivitas antibakteri bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen lain dan uji aktivitas lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Amezquita A, Brashears MM. 2002. Competitive Inhibiton of *Listeria monocytogenes* in Ready to Eat Meat Products by Lactic Acid Bacteria. *Journal Food Protection.* **65**(2): 316-325
2. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Terjemahan: Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih NM, Harsono S, Alimsardjono L . Jakarta. Penerbit Salemba Medika. Hlm. 290-364.
3. Dinata DI. 2009. *Bioteknologi Pemanfaatan Mikroorganisme dan Teknologi Bioproses.* Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 28-59.
4. Djide MN, Sartini. 2008. Isolasi, Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kol (*Brassica oleracea* L.) dan Potensinya sebagai Antagonis *Vibrio harveyi In Vitro*. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanudin*. **18**(3): 211-216.
5. Drancourt M, Bollet C, Martelin R, Gayral JP, Raoult D. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of A Large Collection of Environtmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *Journal of Clinical Microbiology.* **38**(10): 3623-3630.
6. Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hlm. 38-39.
7. Ibrahim A, Fridayanti A, Delvia F. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung.* **1**(2): 8-13.
8. Jawetz E, Melnick L, Adelberg EA. 1980. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 14. Terjemahan: Bonang G. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 284-330
9. Jianbo J, Young SK, Jin Q, Eom HJ, Han NS. 2008. Diversity Analysis of Lactic Acid Bacteria in Takju Korean Rice Wine. Cheongju. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **18**(10): 1678-1682
10. Karmawati E, Mahmud Z, Syakir M, Munarso SJ, Ardana IK, Rubiyo. 2010. *Budidaya dan Pascapanen Kakao*. Puslitbang Perkebunan. Bogor. Hlm. 10-16
11. Katzung GB. 1998. *Farmakologi Dasar dan Klinik.* Edisi 6. Terjemahan: Agoes A, Chaidir J, Munaf S, Tanzil S, Kamaludin MT, Nattadipura S, Leilani Y, Aziz S, Theodorus. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 772- 773.
12. Kusmiati MA. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* PBAC 1 pada Berbagai Media. *Makara Kesehatan.* **6**(1): 1-7.
13. Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika.* Edisi 2. IPB Press. Bogor. Hlm. 6- 3

14. Pelczar MJ, Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Terjemahan: Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. UI Press. Jakarta. Hlm. 99-188.

15. Rahman DH, Tanziha I, Usmiati S. 2012. Formulasi Produk Susu Fermentasi Kering dengan Penambahan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium longum. Jurnal Gizi dan Pangan.* **7**(1): 49-54.

16. Rinanda T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala.* **11**(3): 172-177.

17. Sharah A, Karnila R, Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembung (*Rastrelliger sp.)*. *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*. **15**(1): 168-175.

18. Septiarini WE, Padaga MC, Oktaviane DA. 2013. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Diisolasi dari Feses Orangutan (*Pongo pygmaeus*) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Enterik Patogen Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. **13**(11): 127-133

19. Setiarto RHB, Jenie BSL, Faridah DN, Saskiawan I, Sulistiani. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat Penghasil Amilase dan Pululanase dan Aplikasinya pada Fermentasi Talas. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* **26**(1): 80- 89.

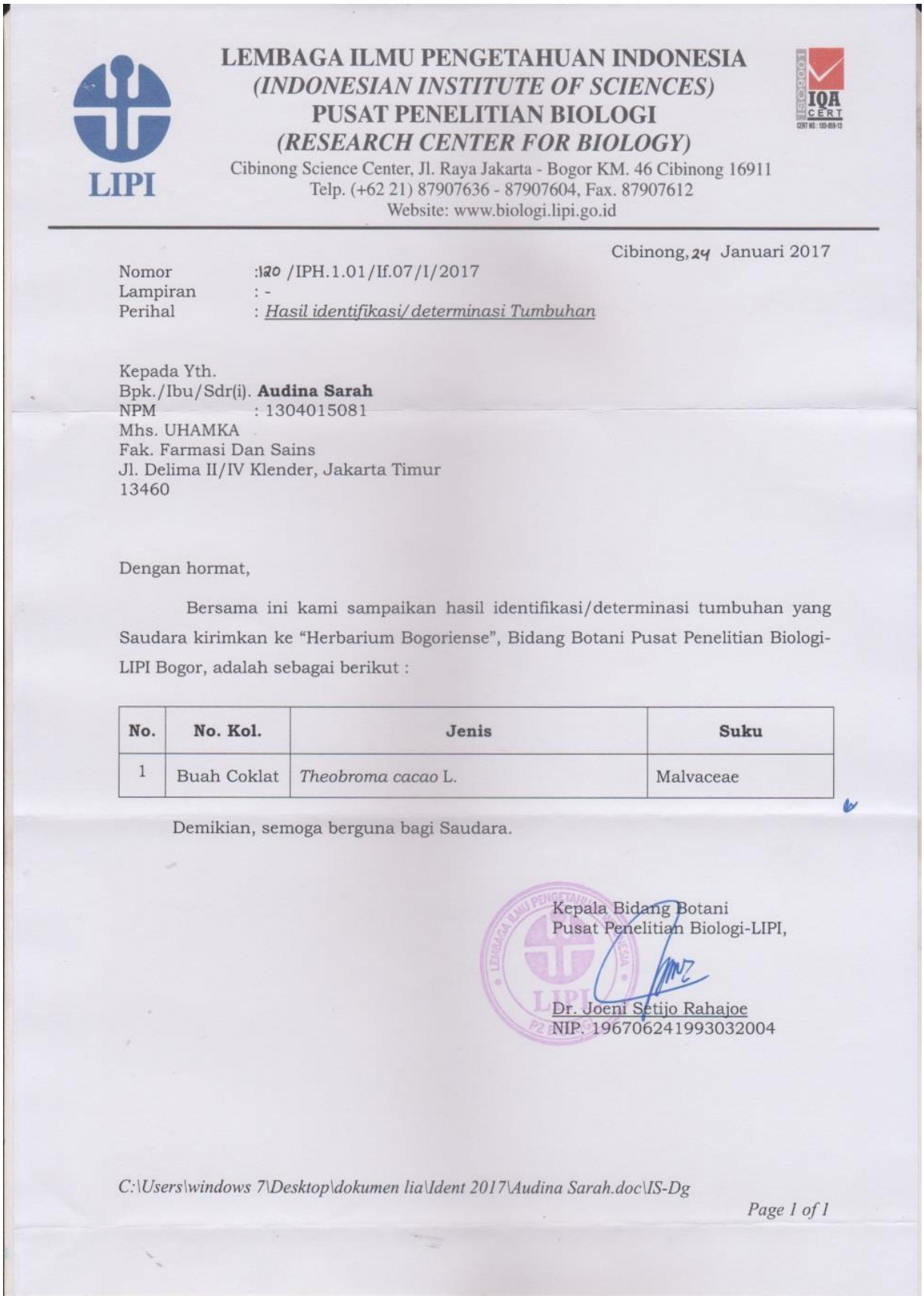
20. Sunanto H. 1992. *Cokelat Pengelolaan Hasil dan Aspek Ekonominya*. Kanisus.Yogyakarta. Hlm. 5-14.\

21. Warisno, Dahana K. 2009. *Inspirasi Usaha Membuat Aneka Nata*. PT Agro Media Pustaka. Jakarta. Hlm. 5.

22. Yani L, Roza RM, Martina A. 2013. Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat dari Yoghurt Produksi Industri Rumah Tangga di Pekanbaru yang Bersifat Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Kampus Binawidya Pekanbaru*. **8**(3): 93-99.

23. Yulineri T, Nurhidayat N. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri *Lactobacillus Plantarum* Terseleksi dari Buah Markisa (*Passiflora edulis*) dan Kaitannya dengan Gen Plantarisin A (plnA). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia.* **1**(2): 270-277.

Lampiran 1. Determinasi Tanaman



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id

Cibinong, 24 Januari 2017

Nomor : 120 /IPH.1.01/If.07/I/2017
Lampiran : -
Perihal : *Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan*

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Audina Sarah**
NPM : 1304015081
Mhs. UHAMKA
Fak. Farmasi Dan Sains
Jl. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur
13460

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Buah Coklat	*Theobroma cacao* L.	Malvaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004

C:\Users\windows 7\Desktop\dokumen lia\Ident 2017\Audina Sarah.doc\IS-Dg

Page 1 of 1

Lampiran 2. Hasil Fementasi Cacao

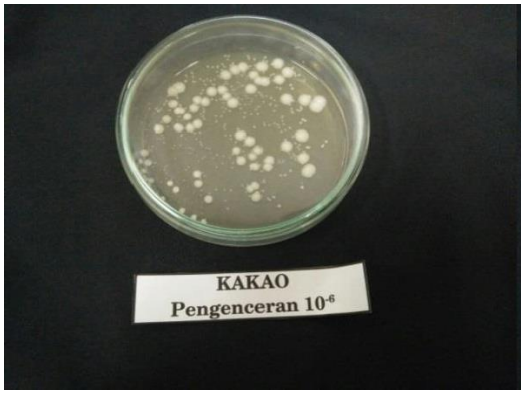
Hasil fermentasi buah kakao merah diperkaya dalam MRSB.

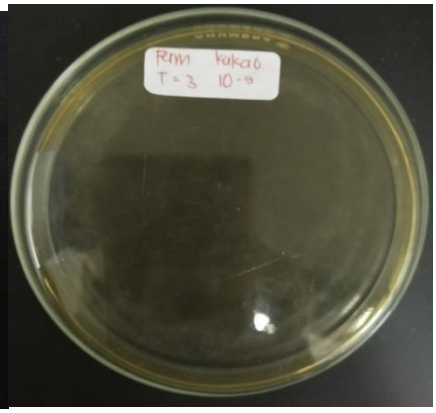
pH sebelum fermentasi : 6

pH setelah fermentasi : 4

Pengenceran bertingkat

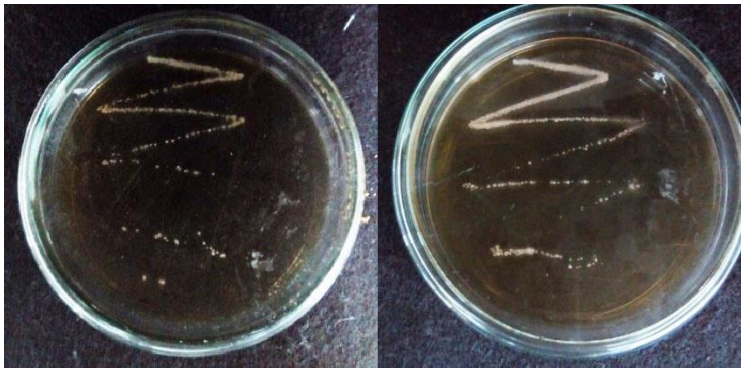
Lampiran 3. Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Cacao



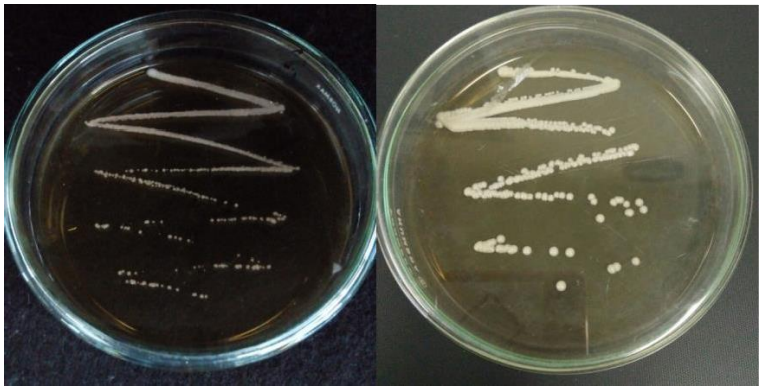


Lampiran 4. Hasil Karakterisasi Makroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL)

KAT371 KAT372



KAT373 KAT374



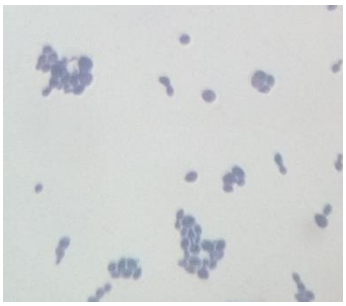
KAT381 KAT382

Lampiran 5. Isolat Murni Bakteri Asam Laktat

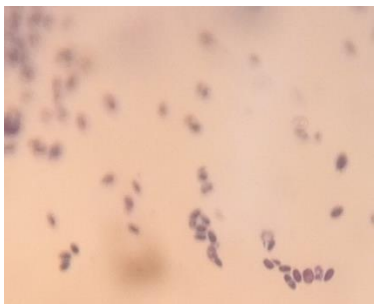
KAT371 KAT372 KAT373

KAT374 KAT381 KAT82

Lampiran 6. Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat

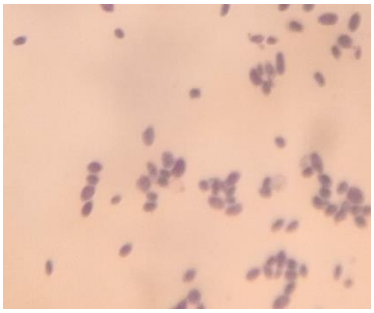


KAT371

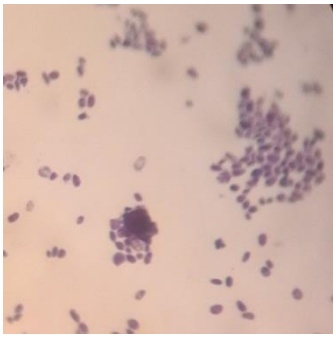


KAT372

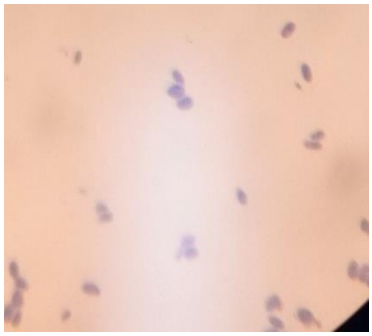
KAT373



KAT374

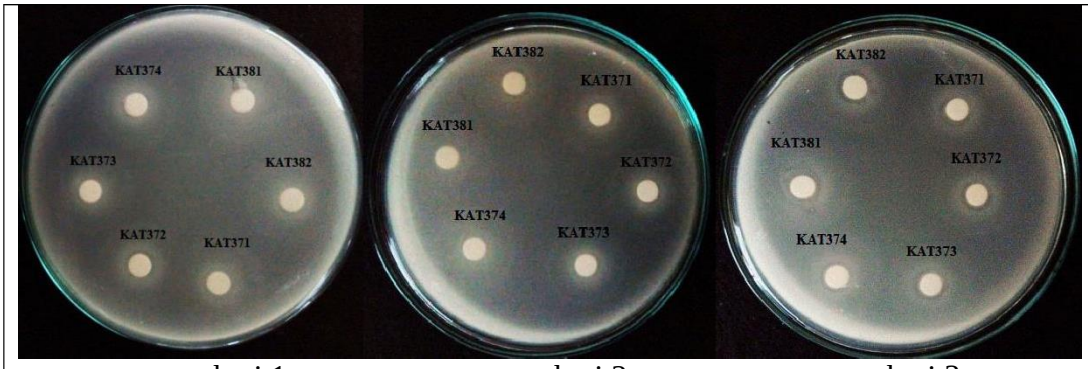


KAT381

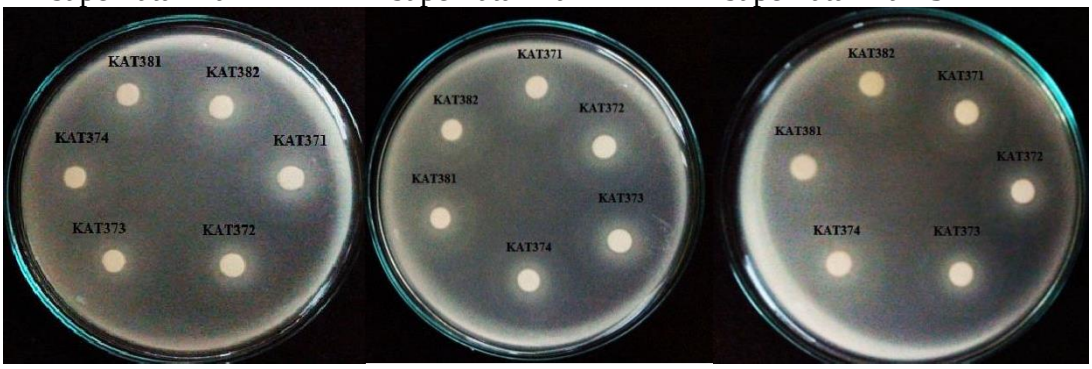


KAT382

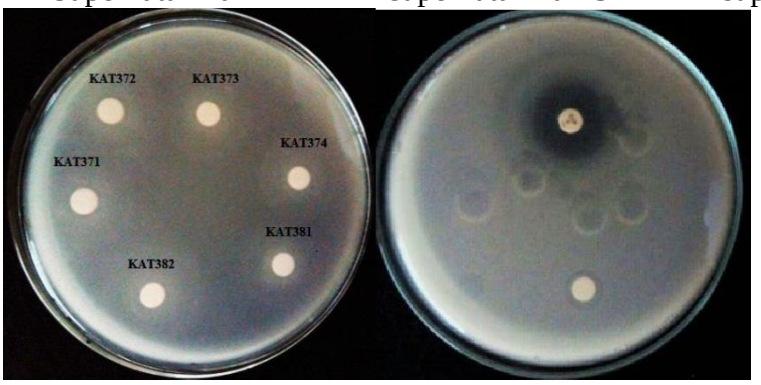
Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Cacao Terhadap Bakteri *Shigella Dysenteriae*



supernatan hari 1 supernatan hari 2 supernatan hari 3



Supernatan hari 4 supernatan hari 5 supernatan hari 6



Supernatan hari 7 kontrol positif dan negatif